

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

E.A.P. DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**Evaluación del potencial citotóxico de los alcaloides de siete
especies nativas del Perú, y su estudio de toxicidad y actividad
antitumoral en cáncer de colon inducido en ratas albinas**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

AUTOR

Karla Giovanna Ríos León

ASESORES

César Máximo Fuertes Ruitón

Jorge Luis Arroyo Acevedo

Lima – Perú

2013

DEDICATORIA

A mi Dios y mi Todo

A mi madre Nancy por su confianza en mí y su apoyo incondicional durante todos los años de mi vida universitaria.

A mi padre Carlos, quién con sus sabios consejos me orienta por el sendero de la vida.

A mi querida hermana Sabina, por enseñarme el significado de la fe y la perseverancia.

AGRADECIMIENTOS

A mi asesor de tesis, **Mg. Cesar Fuertes Ruitón**, docente de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM, por su generosidad al brindarme la oportunidad de poder realizar este proyecto, y recurrir a su amplia experiencia y conocimiento en un marco de confianza y amistad para la culminación del presente trabajo.

A mi co-asesor, **Dr. Jorge Luis Arroyo Acevedo**, docente de la Facultad de Medicina de la UNMSM, por sus valiosos aportes científicos basados en su vasta experiencia, que hicieron posible la realización de este trabajo.

Al presidente del jurado examinador y calificador, **Mg. Luis Rojas Ríos**, por su paciencia en cada detalle corregido.

A los distinguidos miembros del jurado examinador y calificador:

Dr. Pablo Bonilla Rivera

Dr. Mario Carhuapoma Yance

QF. Rosario Carreño Flores

RESUMEN

La finalidad de la presente investigación fue encontrar alcaloides con propiedades citotóxicas sobre el cáncer inducido de colon; para lo cual se evaluó la presencia de alcaloides en siete especies nativas del Perú, debido a sus propiedades antiinflamatorias, las que fueron colectadas en los departamentos de Amazonas, Cajamarca, Ancash y Lima. Las especies vegetales que contienen alcaloides se sometieron al bioensayo de citotoxicidad en un sistema de huevos fértiles de *Tetrapygus niger* (erizo de mar), encontrando que *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso) presenta propiedades citotóxicas importantes. Los alcaloides de *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso) fueron extraídos con cloroformo, y fueron utilizados para los estudios de toxicidad y actividad antitumoral. La investigación también comprendió el estudio hematológico, bioquímico e histopatológico. Los resultados fueron analizados mediante el análisis de varianza aplicándose el test de múltiples comparaciones de Duncan.

El estudio de toxicidad y actividad antitumoral en cáncer de colon inducido por dimetilhidrazina en ratas, consiguió mejorar notablemente el daño celular durante el desarrollo del cáncer.

Palabras clave: *Melocactus bellavistensis*, alcaloides, citotóxico, dimetilhidrazina, cáncer de colon, toxicidad, actividad antitumoral.

SUMMARY

The purpose of the present study was found alkaloidic with cytotoxic property on the induced colon cancer; for this intention, the presence of alkaloids was evaluated in seven native species of Peru, due to its anti-inflammatory, which were collected in the regions: Amazonas, Cajamarca, Ancash and Lima. The vegetable species that contain alkaloids were surrendered to the cytotoxicity assay in system *Tetrapygnus Niger's* fertile eggs (sea urchin). The results showed that *Melocactus bellavistensis* (globular cactus) presented cytotoxic important properties. The *Melocactus bellavistensis's* alkaloid (globular cactus) was extracted by chloroform, and was used for the study of antitumor activity and toxicity. The investigation also understood the hematologic, histopathologic and biochemical study. The results were analyzed by means of the analysis of variance there being applied the test of Duncan's multiple comparisons.

The study of antitumor activity and toxicity in colon cancer induced for dimethylhydrazine in rates, managing to improve notably the cellular hurt during the development of the cancer.

Key words: *Melocactus bellavistensis*, alkaloid, cytotoxic, dimethylhydrazine, colon cancer, toxicity, antitumor activity.

ÍNDICE

I.-INTRODUCCIÓN	1
II.-GENERALIDADES	3
2. 1. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA Y USOS TRADICIONALES DE LAS ESPECIES ESTUDIADAS	3
2.1.1 <i>Thevetia peruviana</i> (Pers) K. Schum.	3
2.1.2 <i>Iresine weberbaueri</i> Suess.	4
2.1.3 <i>Gentianella thyrsoidea</i> (Hook) Fabris.	5
2.1.4 <i>Allamanda weberbaueri</i> Markgr.	6
2.1.5 <i>Aristeguietia ballii</i> (Oliv.) R.M. King & H. Rob.	7
2.1.6 <i>Pseudobombax cajamarcanus</i> Fern.	8
2.1.7 <i>Melocactus bellavistensis</i> Rauh & Backeb.	9
2.2 CÁNCER DE COLON	10
III.- MATERIALES Y MÉTODOS	29
3.1 Materiales	29
3.2 Métodos	31
3.2.1.-SELECCIÓN DE MUESTRAS	31
3.2.2.-EXTRACCIÓN DE ALCALOIDES	31
3.2.3.-ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO DE LOS ALCALOIDES	32
3.2.4.-ACTIVIDAD CITOTÓXICA EN <i>Tetrapygus niger</i> (erizos de mar)	32
3.3. ESTUDIO DE LOS ALCALOIDES DE <i>Melocactus bellavistensis</i> (Cactus Globoso)	35
3.3.1-ESTUDIO DE TOXICIDAD DEL EXTRACTO DE ALCALOIDES DE <i>Melocactus bellavistensis</i> (cactus globoso)	36
3.3.1.1 Toxicidad aguda a dosis única (DL 50)	36
3.3.1.2.-Toxicidad a dosis repetida	37

3.3.2. ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTITUMORAL DEL EXTRACTO DE ALCALOIDES DE <i>Melocactus bellavistensis</i> (cactus globoso), SOBRE EL CÁNCER DE COLON INDUCIDO POR DIMETILHIDRAZINA EN RATAS	37
IV.-RESULTADOS	40
4.1.-ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO PARA DETERMINACIÓN DE ALCALOIDES	40
4.2.-ACTIVIDAD CITOTÓXICA EN <i>Tetrapygus niger</i> (erizos de mar)	41
4.3.-ESTUDIO DE LOS ALCALOIDES DE <i>Melocactus bellavistensis</i> (cactus globoso)	45
4.3.1-ESTUDIO DE TOXICIDAD DEL EXTRACTO DE ALCALOIDES DE <i>Melocactus bellavistensis</i> (cactus globoso)	45
4.4.- ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTITUMORAL DEL EXTRACTO DE ALCALOIDES DE <i>Melocactus bellavistensis</i> (cactus globoso) SOBRE EL CÁNCER DE COLON INDUCIDO POR DIMETILHIDRAZINA EN RATAS	52
V.-DISCUSIÓN	80
VI.-CONCLUSIONES	84
VII.-RECOMENDACIONES	85
VIII.-REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	86
IX.-ANEXOS	92

I. INTRODUCCION

En la actualidad el cáncer de colon es la segunda causa principal de muerte por cáncer en el mundo y afecta en igual proporción a hombres y mujeres. Pasó de ser un padecimiento exclusivo de otras naciones a ser la sexta enfermedad tumoral más frecuente y la de mayor incidencia en el sistema digestivo.

A lo largo de los años, se han realizado investigaciones para encontrar plantas medicinales con posibles propiedades anticancerígenas.

Es así que en nuestro país existen numerosas especies que con propiedades medicinales que requieren ser estudiadas.

Estas plantas que crecen en nuestro territorio son: *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso), *Thevetia peruviana* (Tevetia), *Allamanda weberbaueri* Markgr (Flor amarilla), *Pseudobombax cajamarcanus* Fern (beldaco), *Gentianella thyrsoides* (Hook.) Fabris (japalan shacoj), *Iresine weberbaueri* Suess (flor blanca), *Aristeguietia ballii* (Oliv.) R.M.King & H. Rob (Asmachilca). La mayoría de estas especies son endémicas de nuestro país, se les atribuyen diversas propiedades terapéuticas por lo que son usados en la medicina popular en el tratamiento de las diferentes enfermedades. Entre las partes usadas de estas plantas varían desde las cortezas, hojas, ramas y las flores.

En el Perú, estas especies vegetales no han sido estudiadas, no existen estudios relacionados con sus componentes activos a las cuales se les puede atribuir sus propiedades medicinales.

Este trabajo tiene como objetivo determinar los alcaloides presentes en cada una de las especies vegetales y sus efectos citotóxicos en huevos fértiles de erizos del mar. Luego determinar la toxicidad (DL50) para la especie con mayor contenido de alcaloides, asimismo, determinar su actividad antitumoral sobre el cáncer de colon inducido por 1,2 dimetilhidrazina en ratas.

El presente estudio contribuye en el conocimiento de especies vegetales con propiedades antitumorales, como es el *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso). Es necesario resaltar que no existen estudios anteriores sobre el potencial citotóxico de los alcaloides presentes en *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso).

Sobre la base de los estudios preliminares se ha evaluado el efecto de los alcaloides de *Melocactus bellavistensis*, frente al cáncer de colon inducido con

dimetilhidrazina en animales de experimentación, con la finalidad de llegar a conclusiones que puedan permitir su posterior estudio clínico.

Objetivo General

Encontrar alcaloides con propiedades citotóxicas, en especies nativas del Perú.

Objetivos específicos

1. Determinar la presencia de alcaloides en las siete especies estudiadas, por cromatografía de capa fina (CCF).
2. Determinar la especie con mayor actividad mediante el Bioensayo de citotoxicidad en *Tetrapygus niger* (erizos de mar).
3. Determinar la toxicidad de la especie con mayor contenido de alcaloides, a través de administración de dosis única y dosis repetida del producto en animales de experimentación.
4. Determinar la actividad antitumoral de los alcaloides citotóxicos presente en la especie con mayor contenido de alcaloides sobre el cáncer de colon inducido en ratas con 1,2 dimetilhidrazina..

Hipótesis

Los alcaloides citotóxicos de *Melocactus bellavistensis* presentan actividad antitumoral sobre el cáncer de colon inducido en ratas con dimetilhidrazina.

II.GENERALIDADES

2.1. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA Y USOS TRADICIONALES DE LAS ESPECIES ESTUDIADAS¹⁻⁵

2.1.1 *Thevetia peruviana* (Pers) K. Schum.

Familia: APOCYNACEAE. **Nombre vulgar.** "Tevetia", "Suche".

Es Originaria del Perú, cultivada como planta ornamental se encuentra en Ecuador, Bolivia, México, Panamá y Nicaragua.

Las hojas son alternas, enteras, cortamente pecioladas, linear-lanceoladas, angostas, de 7-15 cm de longitud, de color verde lustroso, con la nerviación lateral poco perceptible. Tiene inflorescencia terminal o lateral con varias flores de color amarillo anaranjado en forma de embudo y de 4-6 cm de longitud.

Uso tradicional

En medicina popular dan de beber el cocimiento de las hojas y las cortezas por sus efectos emético y febrífugo.

El cocimiento concentrado de la corteza mezclada con látex fresco es un purgante drástico.

Las semillas y el látex en pequeñas cantidades actúan como purgante pero en dosis alta puede ser veneno por los vómitos, debilitamiento, dolores y contracciones musculares que produce, por eso los campesinos, aunque utilizan en medicina popular localmente, le atribuyen propiedades venenosas y abortivas.

Las semillas, corteza y hojas trituradas en agua fría sirven como insecticida para eliminar ectoparásitos de aves y perros.

El látex es usado en aplicaciones locales como analgésico dental y en tratamientos de hemorroides.



Figura 1. Rama florida de *Thevetia peruviana*

2.1.2 *Iresine weberbaueri* Suess.

Familia: AMARANTHACEAE.

Nombre vulgar. "Flor blanca".

Es una planta endémica del Perú. Habita ambientes secos y de fuertes pendientes en los valles de Balsas (Amazonas) y Pataz (La Libertad).

Es un arbusto, conocido de algunas localidades en la cuenca del Alto Marañón, bien ramificado que alcanza 3 a 4 m de alto, de ramas decumbentes. Las hojas son opuestas, simples, enteras, lanceoladas, cubiertas por una pubescencia blanquecina hacia la parte abaxial.

Uso tradicional

Las inflorescencias se usan en infusión como desinflamante del sistema digestivo y urinario. Las mujeres toman el cocimiento de las flores para tratar los descensos e inflamaciones de útero y ovarios. También se utiliza para el tratamiento de inflamaciones a la próstata y vejiga urinaria, riñones y diurético, para tal fin se cocina con manayupa (*Desmodium molliculum.*) y cola de caballo (*Equisetum giganteum*, *Equisetum bogotense*).



Figura 2. *Iresine weberbaueri* (Flor blanca)

2.1.3 *Gentianella thyrsoides* (Hook) Fabris

Familia: GENTIANACEAE

Nombres vulgares: "Hercampure macho". "Japalan shacoj", "tucumia hualpapachaqui".

Planta endémica del Perú, Hierba erguida de un solo eje hasta de 30 cm, el tallo está cubierto por un conglomerado de hojas envainadoras que son lanceoladas, base ensanchada y ápice agudo, lustrosas de color verde amarillento, de hasta 70 mm de largo por 3 mm de ancho, la base de las hojas forman un anillo de 2.5 de largo que permanece envuelto a manera de vaina alrededor del tallo. Presentan Flor solitaria, de 20 mm de largo y 8 mm de ancho, pentámera, sostenida por un pedúnculo de hasta 20 mm de largo; cáliz gamosépalo con los dientes agudos hasta 7 mm de largo, corola verde; estambres epipétalos. Fruto en cápsula con numerosas semillas, redondas, cuando están inmaduras son blancas, cuando secan se tornan marrones.

Uso tradicional

En medicina popular muerden las hojas contra el dolor de muelas, también se muele la planta fresca y se tamiza, el jugo se coloca en la caries dental. Las hojas cocidas son utilizadas para bajar niveles de colesterol elevado y contra la diabetes.



Figura 3. Hojas, flores y frutos de *Gentianella thyrsoides*

2.1.4 *Allamanda weberbaueri* Markgr.

Familia: APOCYNACEAE

Nombre vulgar. "Flor amarilla". "Azucena amarilla".

Se cultiva como planta ornamental por sus flores amarillas en forma de campana.

Es un arbusto frondoso de látex blanco, erguido hasta de 4 m de alto; hojas verticiladas, simples, enteras, lanceoladas, de ápice acuminado y base cuneada, pecíolos cortos, penninervias, nervio principal evidente en el envés, de 15 cm de largo y 2.5 cm de ancho. Inflorescencias solitarias o en cimas terminales de pocas flores, corola amarilla, hasta de 9 cm de largo y 6 cm de ancho, ovario bicarpelar. Fruto es una cápsula hasta de 6 cm de largo x 4 cm de ancho, con numerosas semillas aladas. **Uso tradicional**

El látex se aplica a las heridas y uñas infectadas por hongos. También se aplica en las caries dentales como analgésico para calmar el dolor.

A las hojas tiernas en infusión, le atribuyen propiedades cardiotónicas y relajantes.

La hojas frescas molidas y algunas gotas de látex de los frutos lo toman como purgante drástico.



Figura 4.Rama florida de *Allamanda weberbaueri*

2.1.5 *Aristeguietia ballii* (Oliv.) R.M.King & H. Rob.

Familia: ASTERACEAE

Nombre vulgar. "Asma chilca", "Asnacchilca".

Colectada en el departamento de Lima.

Es un arbusto bien ramificado, forma matas densas que alcanza hasta 2.5 m de alto, tallos morados, glabros. Hojas aromáticas, simples, opuestas, revolutas, serosas, vena principal evidente por el envés, enteras, lineales o lineal-lanceoladas, base cuneada y ápice agudo, envés con pubescencia blanquecina, haz verde, glabro y seroso, hasta 14 cm de largo x 1.6 cm de ancho, pecíolo hasta 5 mm de largo.

Inflorescencia en cimas laxas de cabezuelas pedunculadas. Flores fucsias protegidas por brácteas moradas. Fruto negro, vilano crema.

Uso tradicional

Se utilizan las hojas y ramas tiernas cocidas como expectorante. Asimismo las hojas cocidas para el asma e infecciones bronquiales. Para la gripe y cefaleas se frota hojas frescas entre las manos y se inhala profundamente.



Figura 5. Rama con flores de Aristeguietia ballii

2.1.6 *Pseudobombax cajamarcanus* Fern.

Familia: BOMBACACEAE.

Nombre vulgar. "Beldaco".

Es una planta endémica del Perú. Es un árbol de hasta 9 m de alto, corteza gruesa y fisurada verticalmente, de color verdoso con cicatrices negruzcas en el tronco principal y ramas viejas, tronco casi siempre inclinado y bien ramificado, ramas de aspecto retorcidas, ramas tiernas siempre verdes; hojas alternas, palmaticompuestas, folíolos enteros y coriáceos, 3 a 5 por hoja, pecíolos hasta 15 cm de largo, rosados al igual que los pecíolulos que sostienen a los folíolos. Flores verdosas hasta 11 - 12 cm de largo, numerosos estambres con filamentos blancos y antera marrón; cáliz verde con puntos rojos en la base, carnoso, en forma de copa; ovario súpero; botón floral negro. Fruto en cápsula alargada y leñosa; semillas numerosas, marrones, cubiertas por abundante fibra con aspecto algodonoso de color marrón claro y de aspecto delicado.

Uso tradicional

La corteza del tronco principal y de las ramas gruesas son utilizadas para tratar úlceras estomacales y para emplastos y baños calientes para aliviar los dolores musculares, luxaciones y quebraduras de huesos.



Figura 6. Rama de Pseudobombax cajamarcanus

2.1.7 *Melocactus bellavistensis* Rauh & Backeb.⁶

Familia: CACTACEAE.

Nombre vulgar. "Zúgaro, cactus globoso".

Es una planta nativa del Perú, su nombre específico es en honor al pueblo de Bellavista del Dpto. de Cajamarca, donde fue colectado por primera vez. En la actualidad se encuentra también en Ecuador. Habita bosques secos tipo matorral y prospera a luz abierta. Es una planta terrestre, con las siguientes características: Globoso deprimido a algo cónico y alargado, de color verde oscuro brillante, 6 a 25 cm de alto, 8 a 25 cm de diámetro. Espinas blanquecino a amarillo rojizo, con revestimiento de color gris, por lo general curvadas descendente, variable en número. Espinas centrales ausentes o 1 a 3, situado en la parte superior de las areolas, 1 a 17 mm de largo. Cephalio hasta 15 cm de alto, 6 a 10 cm de diámetro, con cerdas rojas y blancas excertas. Flores se abren a mediados de la tarde, en el fondo de color rosa, 18-26 mm, largo, 5 - 10 mm de diámetro, pueden ser solitarias o varias a la vez, ubicadas en un círculo presente en el ápice de la cefalia. Frutos rosados a rojos de 15 - 29 mm de largo, de 1 - 3 cm de largo, y suelen brotar y resaltar cuando se encuentran en estado maduro (Madsen, 1989). El mesocarpio es blanco y gelatinoso. Las semillas son pequeñas, verrugosas y de coloración negra.

Uso tradicional

Los curanderos la usan como sustituto del cacto columnar san pedro, como planta visionaria. También en pequeñas dosis se come el parénquima y los frutos para aplacar la sed y el hambre. En muchos lugares de ceja de selva se cultiva en macetas como planta ornamental.



Figura8. Melocactus bellavistensis

2.2 CÁNCER DE COLON

Ni la genética ni el entorno son determinantes únicos de la carcinogénesis. Aunque aún no se conoce la causa precisa que origina el crecimiento tumoral, se puede afirmar que posiblemente el carcinoma de colon tenga un origen multifactorial que incluye factores medioambientales (sobre todo dietéticos) y alteraciones genéticas, tanto heredadas como somáticas⁷⁻⁹.

2.2.1 Clasificación del cáncer de colon

Existen varios sistemas de clasificación del cáncer colorectal, que son los sistemas Dukes modificada por Astler y Collier y AJCC /TNM (Tumor Node, Metastasis Stage Grouping) (UICC, 1997). Este último designa las etapas con números romanos, del 0 al IV, sin duda más correcta pero más compleja. En ella se tiene en cuenta, además de las capas del intestino afectado, el número de ganglios afectados.

Clasificación de Dukes o Astler y Collier:

- Etapa A: Lesión limitada a la mucosa, sin afectación ganglionar.
- Etapa B1: El tumor afecta a parte de la pared del colon o recto, sin atravesarla ni afectar ganglios.
- Etapa B2: Afecta a toda la pared sin invasión ganglionar.
- Etapa C: La enfermedad puede afectar a parte o a toda la pared, con afectación ganglionar.
- Etapa D: Existe afectación de otros órganos alejados.

La supervivencia a cinco años se relaciona directamente con estas etapas. Así si el paciente está en el estadio A tiene una probabilidad de supervivencia del 70%, en la B, del 45%, en la C, el 20% y en la D, es nula¹⁰

El sistema AJCC/TNM describe la extensión del tumor primario (T), la ausencia o presencia de metástasis en los ganglios linfáticos cercanos (N) y la ausencia o presencia de metástasis distantes (M).

Etapas T

Describen la afectación de las distintas capas que componen la pared del recto y del colon. Estas etapas son las siguientes:

- T x: no es posible conocer la extensión del tumor porque no está completamente formado.
- T o :No hay indicación de tumor primario
- T is: El cáncer está en su inicio y no se ha extendido más allá de la capa más interna, la mucosa, del colon o del recto.
- T I: El cáncer ha atravesado la mucosa y se extiende hacia la submucosa.
- T II: Las capas de la mucosa, y la submucosa están afectadas y el cáncer se extiende hacia la capa muscular.
- T III: La capa muscular está completamente afectada y avanza hacia la subserosa.
- T IV: El cáncer ya ha invadido los órganos o tejidos conjuntivos.

Etapas N

- N x: No se conoce si los ganglios linfáticos están afectados, porque no se tienen suficientes datos.
- N 0: No hay ningún ganglio afectado.
- N 1: El número de ganglios invadidos oscila entre 1 y 3.
- N 2: Hay células cancerosas en 4 o más ganglios linfáticos regionales.

Etapas M

- M x: No se conoce la extensión del cáncer.
- M 0: No hay extensión a otros órganos distantes.
- M 1: Hay afectación a órganos distantes.

Tabla 1. Equivalencia entre la clasificación TNM y Dukes¹¹

TNM	Dukes modificada	
Tis N0M0	AA	
T1N0M0	B1	Tumor limitado a la mucosa
T2N0M0	B2	El tumor no atraviesa la pared, ganglios negativos
T3N0M0	B3	El tumor se extiende, microscópicamente más allá de la pared intestinal. Ganglios negativos
T4N0M0	C1	El tumor se extiende, macroscópicamente, más allá de la pared intestinal. Ganglios negativos
T2.N1-2M0	C2	El tumor no atraviesa la pared. Ganglios positivos
T3-4 N1-2 M0	C2	Estadio B2 más Ganglios positivos
T4N1-2 M0	C3	Estadio B3 más Ganglios positivos
Todos T	C3	Estadio B3 más ganglios positivos
Todos N-M1	D	Enfermedad metastásica a distancia

2.2.2 Estadios clínicos del cáncer de colon para su tratamiento¹²

2.2.2.1 Estadio 0 (*carcinoma in situ*)

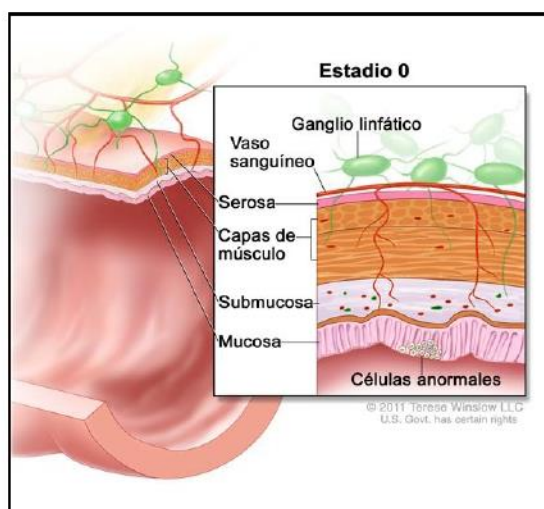


Figura 9. Estadio 0

Se muestran células anormales en la mucosa de la pared del colon. Estas células anormales se pueden volver cancerosas y diseminarse.

2.2.2.2 Estadío I

En el estadio I, el cáncer se formó en la mucosa de la pared del colon y se disemina hasta la submucosa. El cáncer se puede haber diseminado hasta la capa muscular de la pared del colon.

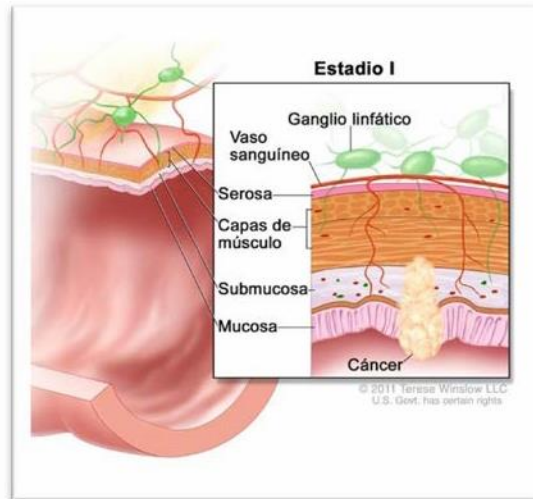


Figura 10. Estadío I

2.2.2.3 Estadío II

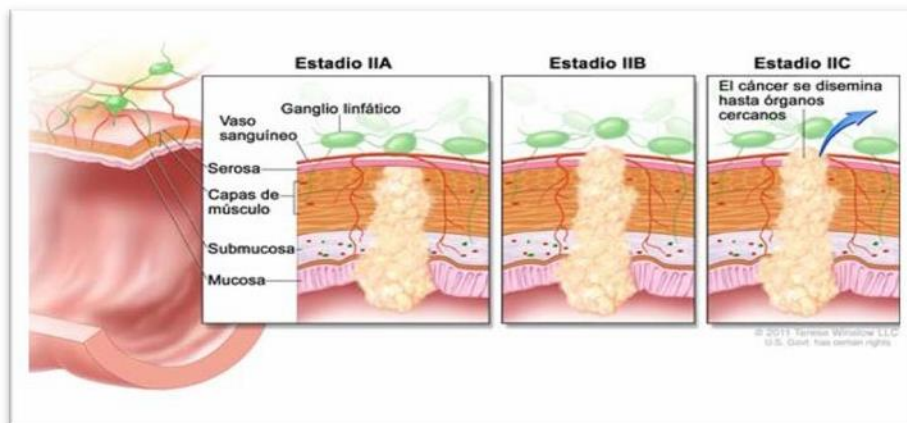


Figura 11. Estadío II

El cáncer de colon en estadio II, se divide en estadio IIA, estadio IIB y estadio IIC.

- Estadío IIA: El cáncer se disemina a través de la capa muscular de la pared del colon hasta la serosa de la pared del colon.
- Estadío IIB: El cáncer se disemina a través de la serosa de la pared del colon, pero no se diseminó a los órganos cercanos.

- **Estadio IIC:** El cáncer se disemina a través de la serosa de la pared del colon hasta los órganos cercanos.

2.2.2.4 Estadio III

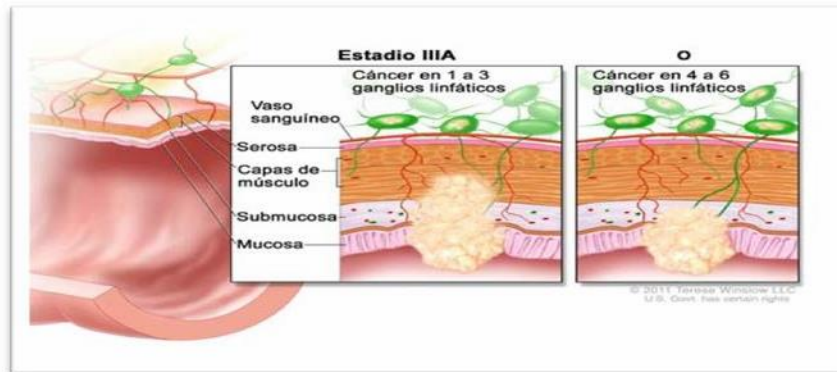


Figura 12. Estadio III A

El cáncer de colon en estadio III, se divide en estadio IIIA, estadio IIIB y estadio IIIC.

Estadio IIIA: El cáncer se disemina a través de la mucosa de la pared del colon hasta la submucosa y la capa muscular y hasta 1 a 3 ganglios linfáticos o tejidos cerca de los ganglios linfáticos. **O**, a través de la mucosa hasta la submucosa y hasta 4 a 6 ganglios linfáticos cercanos.

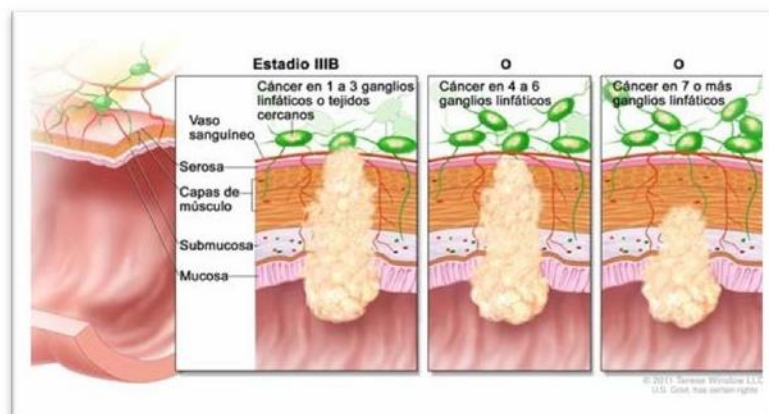


Figura 13. Estadio III B

Estadio IIIB: El cáncer se disemina a través de la capa muscular de la pared del colon hasta la serosa, o hasta la serosa, pero no hasta órganos cercanos. El cáncer se disemina hasta 1 o 3 ganglios linfáticos cercanos, o hasta los tejidos cercanos a los ganglios linfáticos. **O** hasta la capa muscular o hasta la serosa, y hasta 4 a 6 ganglios linfáticos cercanos. **O**, el cáncer se disemina a través de la mucosa hasta la

submucosa y se puede diseminar hasta la capa muscular y hasta siete o más ganglios linfáticos cercanos.

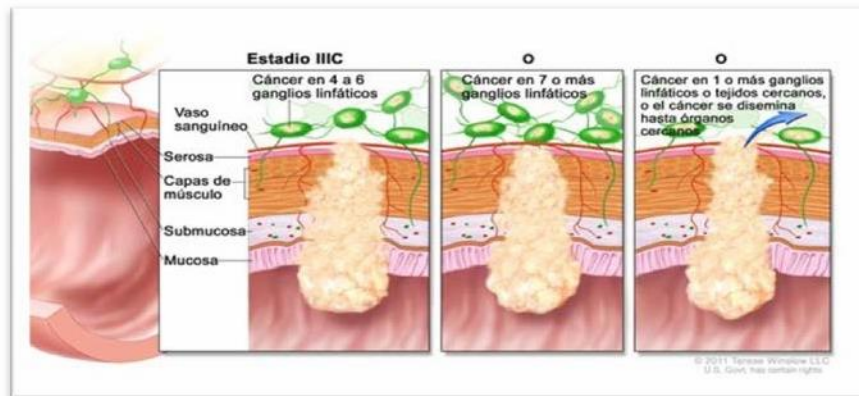


Figura 14. Estadio III C

Estadio IIIC.: El cáncer se disemina a través de la serosa de la pared del colon, pero no hasta órganos cercanos; el cáncer se disemina hasta 4 a 6 ganglios linfáticos. O, el cáncer se disemina a través de la capa muscular hasta la serosa o se disemina a través de la serosa, pero no hasta órganos cercanos; el cáncer se disemina hasta siete o más ganglios linfáticos cercanos. O, el cáncer se disemina a través de la serosa hasta órganos cercanos; el cáncer se disemina hasta uno o más ganglios linfáticos cercanos, o hasta los tejidos cercanos a los ganglios linfáticos.

2.2.2.5 Estadio IV

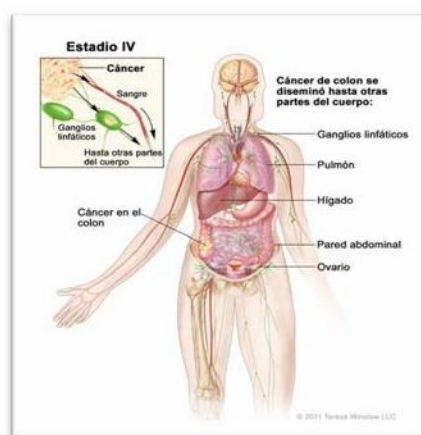


Figura 15. Estadio IV

En el estadio IV, el cáncer se disemina a través de la sangre y los ganglios linfáticos hasta otras partes del cuerpo, como el pulmón, el hígado, la pared del abdomen o el ovario.

El cáncer de colon en estadio IV se divide en estadio IVA y estadio IVB.

- **Estadio IVA:** El cáncer se disemina a través de la pared del colon y se puede diseminar a órganos o ganglios linfáticos cercanos. El cáncer se disemina a un órgano que no está cerca del colon, como el hígado, un pulmón o un ovario, o hasta un ganglio linfático lejano.
- **Estadio IVB:** El cáncer se disemina a través de la pared del colon y se puede diseminar hasta órganos o ganglios linfáticos cercanos. El cáncer se disemina a más de un órgano que no está cerca del colon o hasta el revestimiento de la pared abdominal.

Tabla 2. Equivalencia entre los estadios anatómicos y Grupos de pronóstico¹³

Estadio	T	N	M	Dukes
0	Tis	N0	M0	..
I	T1	N0	M0	A
	T2	N0	M0	A
IIA	T3	N0	M0	B
IIB	T4a	N0	M0	B
IIC	T4b	N0	M0	B
IIIA	T1-T2	N1/N1C	M0	C
	T1	N2a	M0	C
IIIB	T3-T4a	N1/N1C	M0	C
	T2-T3	N2a	M0	C
	T1-T2	N2b	M0	C
IIIC	T4a	N2a	M0	C
	T3-T4a	N2b	M0	C
	T4b	N1-N2	M0	C
IVA	Cualquier T	Cualquier N	M1a	..
IVB	Cualquier T	Cualquier N	M1b	..

2.2.3 Tratamiento de cáncer de colon según estadios

2.2.3.1 Estadio 0

El tratamiento del estadio 0 (carcinoma in situ) puede incluir los siguientes tipos de cirugía ^{14- 16}:

- Escisión local o poliplectomía simple.
- Resección/anastomosis. Esto se lleva a cabo cuando el tumor es demasiado grande para extirparse por escisión local.

2.2.3.2 Estadio I

El tratamiento del cáncer del colon en el estadio I generalmente comprende resección/anastomosis.

2.2.3.3 Estadio II

El tratamiento del cáncer del colon en el estadio II generalmente comprende los siguientes procedimientos:

- Resección/anastomosis.
- Participación en un ensayo clínico de quimioterapia, radioterapia o terapia biológica, después de la cirugía.

2.2.3.4 Estadio III

- Resección/anastomosis con quimioterapia.
- Participación en un ensayo clínico de quimioterapia, radioterapia o terapia biológica, después de la cirugía.

2.2.3.5 Estadio IV y recidivante

- Resección/anastomosis (cirugía para extirpar el cáncer o derivar el tumor y unir los extremos cortados del colon)

- Cirugía o quimioterapia para extirpar partes de otros órganos como el hígado, los pulmones y los ovarios a los que el cáncer se puede haber diseminado o vuelto.
- Participación en un ensayo clínico de quimioterapia o terapia biológica. • Se puede ofrecer radioterapia a algunos pacientes como terapia paliativa para aliviar los síntomas.
- El tratamiento para el cáncer recurrente del colon puede incluir la escisión local.
- Los tratamientos especiales para el cáncer que se ha diseminado o regresado al hígado pueden incluir los siguientes procedimientos:
- Quimioterapia seguida de resección.
- Ablación por radiofrecuencia o criocirugía.
- Participación en ensayos clínicos de quimioembolización hepática con radioterapia.
- A los pacientes en los que el cáncer del colon se disemina o vuelve después del tratamiento inicial con quimioterapia, se les puede ofrecer quimioterapia adicional con un medicamento diferente o una combinación de medicamentos.

2.2.4 Tratamiento de Quimioterapia adyuvante según estadios¹⁷

Se describen protocolos de tratamiento para el cáncer de colon, incluida la terapia adyuvante y neoadyuvante para la enfermedad y la quimioterapia para el cáncer de colon avanzado o metastásico.

Quimioterapia adyuvante en

2.2.4.1 Estadio 0 y I:

Pacientes no requieren terapia adyuvante

2.2.4.2 Estadio IIA, B y C (Ganglios negativos)¹⁷⁻¹⁹

El valor de la terapia adyuvante en estadio II es muy controversial, sin embargo los regímenes siguientes pueden ser utilizados:

- Capecitabina 1250 mg/m² dos veces por día en los días 1-14, cada ciclo de repetición 21 días durante 8 ciclos.
- Leucovorina 500 mg/m² en infusión de 2 horas y se repite semanalmente durante 6 semanas más 5-fluorouracilo (5-FU) 500

mg/m² en bolo 1h después del inicio de la leucovorina y repetir 6 veces por semana, cada 8 semanas de 4 ciclos.

- Leucovorina 400 mg/m² IV durante 2 horas al día 1 más 5-FU 400 mg/m² en bolo, luego 1200 mg/m²/día durante 2 días (total 2400 mg/m² durante 46-48h) en infusión continua; repetir cada 2 semanas.

2.2.4.3 Estadio II: Quimioterapia adyuvante en pacientes de alto riesgo o riesgo intermedio:

Antes del año 2000 el 5-FU fue la única quimioterapia citotóxica disponible en el entorno adyuvante para pacientes de cáncer de colon en estadio III. Muchos de los primeros estudios aleatorios del 5-FU en el entorno adyuvante no lograron mostrar mejoría significativa en la supervivencia de los pacientes^{20, 21, 22,23}

La terapia adyuvante para pacientes de alto riesgo a partir del estadio II es una opción, y los regímenes comunes incluyen el uso de 5-FU y leucovorina con o sin oxaliplatino o capecitabina.

- mFOLFOX6: oxaliplatino 85 mg/m² IV durante 2 horas el día 1 más leucovorina 400 mg/m² IV durante 2 horas el día 1 más 5-FU 400 mg/m² en bolo IV el día 1, a continuación, 1200 mg/m²/día durante 2d continua infusión; repetir cada 2 semanas o
- FLOX: 5-FU 500 mg/m² IV semanal más leucovorina 500 mg/m² IV semanal durante 6 semanas (días 1, 8, 15, 22, 29 y 36) de cada ciclo de 8 semanas más oxaliplatino 85 mg/m² IV administró los días 1, 15 y 29 de cada ciclo de 8 semanas durante 3 ciclos o
- Capecitabina 1250 mg/m² PO dos veces por día, en los días 1-14, cada ciclo de repetición 21d durante 8 ciclos

2.2 4.4 Estadio III (Ganglios positivos).Terapia adyuvante para cáncer extirpable^{18, 19}

Los siguientes regímenes son aceptables como terapias adyuvantes para la enfermedad en estadio III del cáncer de colon extirpable:

- mFOLFOX6: oxaliplatino 85 mg/m² IV durante 2 horas el día 1 más leucovorina 400 mg/m²IV durante 2 horas el día 1 más 5-FU 400 mg/m² en bolo IV el día 1, a continuación, 1200 mg/m²/día durante 2d continua infusión; repetir cada 2 semanas o
- FLOX: 5-FU 500 mg/m² IV semanal más leucovorina 500 mg/m²IV semanal durante 6 semanas(días 1, 8, 15, 22, 29 y 36) de cada ciclo de 8 semanas más oxaliplatino 85 mg/m² IV administró los días 1, 15 y 29 de cada ciclo de 8 semanas durante 3 ciclos o
- Capecitabina 1250 mg/m² PO dos veces por día, en los días 1-14, cada ciclo de repetición 21d durante 8 ciclos
- CapeOX: El oxaliplatino 130 mg/m² durante 2 horas el día 1 más capecitabina 1.000 mg/m²PO dos veces al día durante los días 1-14, cada 3 semanas durante 8 ciclos o
- Leucovorina 500 mg/m²en infusión de 2 horas y se repite semanalmente durante 6 semanas más 5-FU 500 mg/m²como bolo 1h después del inicio de la leucovorina y repetir 6 veces por semana, cada 8 semanas para 4 ciclos o
- Leucovorina 400 mg/m²IV durante 2 horas el día 1 más 5-FU 400 mg/m²en bolo, luego 1200 mg/m²/día durante 2d (total 2400 mg/m²durante 46-48h) de infusión continua; repetir cada 2 semanas

Terapia neoadyuvante para la enfermedad metastásica extirpable

La terapia neoadyuvante para la enfermedad metastásica extirpable se administra generalmente por aproximadamente 2-3 meses, lo que limita el desarrollo de hepatotoxicidad¹⁵. Los regímenes de terapia neoadyuvante y adyuvante son similares.

- mFOLFOX6: Oxaliplatino 85 mg/m² IV durante 2 horas el día 1 más leucovorina 400 mg/m²IV durante 2 horas el día 1 más 5-FU 400 mg/m²IV

en bolo en el día 1, luego de 1200 mg/m²/día en 2do día en infusión continua; repetir cada 2 semanas o

- FOLFIRI: Irinotecán 180 mg/m² IV en 30-90min en el día 1 más leucovorina 400 mg/m² infusión IV para que coincida con la duración de la infusión de irinotecán en el día 1 más 5-FU 400 mg/m² IV bolo en el día 1, luego 1200 mg/m²/día para el segundo día (total 2400 mg/m² durante 46-48 horas) de infusión continua; repetir cada 2 semanas o
- CapeOX con o sin bevacizumab: El oxaliplatino 130 mg/m² durante 2 horas el día 1, más capecitabina 1.000 mg/m² PO dos veces por día por 14 días; repetir cada 3 semanas más bevacizumab 7,5 mg/kg IV cada 3 semanas

Quimioterapia para la enfermedad avanzada o metastásica

2.2.4.5 Etapa IV:

La quimioterapia para enfermedad avanzada o metastásica incluye el uso de múltiples fármacos citotóxicos, como agentes únicos o como regímenes de combinación.²⁴⁻²⁹

A continuación se describen los tratamientos:

Quimioterapia de primera línea para los candidatos bevacizumab:

- mFOLFOX6 más bevacizumab: bevacizumab 5 mg/kg durante 30 90 minutos el día 1, más oxaliplatino 85 mg/m² IV durante 2 horas el día 1, más leucovorina 400 mg/m² IV durante 2 horas el día 1 más 5-FU 400 mg/m² IV en bolo el día 1, a continuación, 1200 mg/m²/día durante 2do día en infusión continua; repetir cada 2 semanas por 4-6 ciclos con una reevaluación de la terapia de mantenimiento (1 g de gluconato de calcio y 1 g de sulfato de magnesio puede ser entregarse antes de la perfusión y 15 minutos postinfusional para reducir el riesgo de neurotoxicidad) o
- FLOX más bevacizumab: bevacizumab 5 mg/kg durante 30 90 minutos en los días 1, 15, y 29 más oxaliplatino 85 mg/m² los días 1, 15, y 29 más leucovorina 500 mg/m² los días 1, 8, 15, 22, 29, y 36 más 5-FU 500 mg/m² en los días 1, 8, 15, 22, 29 y 39 para 2 ciclos, seguido de reevaluación
- FOLFIRI y bevacizumab: bevacizumab 5 mg / kg durante 30 a 90 minutos el día 1, más irinotecan 180 mg/m² IV durante 30-90 minutos en el día 1, más leucovorina 400 mg/m² en infusión IV para que

coincida con la duración de la infusión de irinotecan en el día 1, más 5 - FU 400 mg/m² en bolo IV el día 1, a continuación, 1200 mg/m²/día durante 2do día (total 2400 mg/m²durante 46-48horas) de infusión continua; repetir cada 2 semanas por 4-6 ciclos, con una reevaluación de la terapia de mantenimiento o

- CapeOX más bevacizumab: bevacizumab 7,5 mg / kg durante 30 90 minutos el día 1 más oxaliplatino 130 mg/m² durante 2 horas el día 1, más capecitabina 1.000 mg/m²PO dos veces al día para el día 14, día 21 a repetir cada 4 ciclos, seguido de una reevaluación de la terapia de mantenimiento o
- La capecitabina y bevacizumab (en pacientes que no pueden someterse a un tratamiento con oxaliplatino o irinotecán): Bevacizumab 7,5 mg / kg el día 1, más capecitabina 1.250 mg/m²PO dos veces al día para el día 14, el día 21 con cada ciclo de repetición de 8 ciclos, a continuación, volver a evaluar para el mantenimiento o
- Régimen De Gramont más bevacizumab (en pacientes que no pueden someterse a un tratamiento con oxaliplatino o irinotecán): Bevacizumab 5 mg/kg durante 30 a 90 minutos el día 1, más leucovorina 400 mg/m² IV durante 2 horas el día 1 más 5-FU en bolo de 400 mg/m², a continuación, 1200 mg/m²/día durante 2 días (total 2400 mg/m²durante 46-48h) de infusión continua; repetir cada 2 semanas por 4-6 ciclos, con una reevaluación de la terapia de mantenimiento o
- Bevacizumab más 5-FU y leucovorina (Roswell Park) (en pacientes que no pueden someterse a un tratamiento con oxaliplatino o irinotecán): Bevacizumab 5 mg / kg durante 30 minutos a 90 en el día 1, más leucovorina 500 mg/m²durante 2 horas, más 5-FU 500 mg/m² cada bolo 2 semanas por 4-6 ciclos, con una reevaluación de la terapia de mantenimiento.

Primera línea de quimioterapia para los pacientes que no son candidatos para el bevacizumab:²⁷⁻³⁰

- mFOLFOX6: Oxaliplatino 85 mg/m²IV durante 2 horas el día 1, más leucovorina 400 mg/m²IV durante 2 horas el día 1, más 5-FU 400 mg/m²IV en bolo en el día 1, luego de 1200 mg/m²/día en dos días en infusión continua; repetir cada 2 semanas para 4 ciclos o
- FLOX: Oxaliplatino 85 mg/m² los días 1, 15, y 29 más leucovorina 500 mg/m² en los días 1, 8, 15, 22, 29 y 36, seguido de 5-FU 500 mg/m² los días 1, 8, 15, 22, 29 y 39 para 2 ciclos, seguido de reevaluación o
- FOLFIRI: Irinotecán 180 mg/m²IV en 30-90min en el día 1 más leucovorina 400 mg/m² infusión IV para que coincida con la duración de la infusión de irinotecan en el día 1 más 5-FU 400 mg/m² IV bolus en el día 1, luego 1200 mg / m²/día a partir del 2do día (total 2400 mg/m² durante 46-48h) de infusión continua; repetir cada 2 semanas para 4 ciclos o
- Capecitabina: Capecitabina 1250 mg/m² PO dos veces al día en los días 1-14, cada ciclo de repetición 21 días hasta la progresión o
- Régimen de Roswell Park: Leucovorina 500 mg/m² IV semanal durante más de 2 horas por 6 semanas, más 5-FU 500 mg/m² IV en bolo semanal por 6 semanas; con ciclo de repetición de 8 semanas o
- CapeOX: Oxaliplatino 130 mg/m² durante 2 horas el día 1, más capecitabina 1.000 mg/m² dos veces por día durante 14 días que se repite cada 21 días para 4 ciclos, seguido de una reevaluación de la terapia de mantenimiento o
- mFOLFOX6 más cetuximab (sólo para KRAS no mutado tumores): Cetuximab 400 mg/m²dosis de carga en el día 1, a continuación, cetuximab 250 mg/m²semanal de más oxaliplatino 85 mg/m² IV durante 2 horas el día 1 más leucovorina 400 mg/m²IV más de 2 horas el día 1 más 5-FU 400 mg/m² en bolo IV el día 1, a continuación, 1200 mg/m²/día durante 2 días en infusión continua; repetir cada 2 semanas de 4 ciclos, a continuación, volver a evaluar o
- FOLFIRI más cetuximab (sólo para KRAS no mutado tumores): Cetuximab 400 mg/m²dosis de carga de más de 2 horas en el día 1, a continuación, cetuximab 250 mg/m²durante 1 hora semanal más irinotecán 180 mg/m²IV

en 30-90min en el día 1 más leucovorina 400 mg/m²infusión IV para que coincida con la duración de la infusión de irinotecan en el día 1 más 5-FU 400 mg/m²en bolo IV el día 1, a continuación, 1200 mg/m²/día durante 2 días (total 2400 mg/m²en infusión continua de 48 horas); repetir cada 2 semanas de 4 ciclos, a continuación, volver a evaluar o

- Referencia para el ensayo clínico

Segunda línea de quimioterapia para la enfermedad metastásica:31-33

- FOLFIRI (si FOLFOX, CapeOX, CapeOX más bevacizumab o FOLFOX más bevacizumab fueron usados como primera línea de quimioterapia): El irinotecán 180 mg/m² IV en 30-90min en el día 1 más leucovorina 400 mg/m² infusión IV para que coincida con la duración de la infusión de irinotecan en el día 1 más 5-FU 400 mg/m²en bolo IV el día 1, a continuación, 1200 mg/m²/día durante 2 días (total 2400 mg/m²durante 46-48h) de infusión continua; repetir cada 2wk de 4 ciclos, a continuación, volver a evaluar o
- FOLFIRI más cetuximab (sólo para KRAS no mutado tumores y si FOLFOX, CapeOX, CapeOX más bevacizumab o FOLFOX más bevacizumab fue utilizado como quimioterapia de primera línea): Cetuximab 400 mg/m²dosis de carga de más de 2 horas el día 1, a continuación, cetuximab 250 mg / m²más de 1 hora semanal más irinotecán 180 mg/m²IV en 30-90min en el día 1 más leucovorina 400 mg/m²infusión IV para que coincida con la duración de la infusión de irinotecan en el día 1 más 5-FU 400 mg/m²en bolo IV el día 1, a continuación, 1200 mg/m²/día durante dos días (total 2400 mg/m²durante 46-48h) de infusión continua; repetir cada 2 semanas de 4 ciclos y luego volver a evaluar o
- mFOLFOX6 (si FOLFIRI o FOLFIFI más bevacizumab fue utilizado como quimioterapia de primera línea): El oxaliplatino 85 mg/m²IV durante 2 horas el día 1 más leucovorina 400 mg/m²IV durante 2 horas el día 1 más 5-FU 400 mg/m²IV en bolo en el día 1, a continuación, 1200 mg/m²/día durante dos día en infusión continua; repetir cada 2 semanas para 4 ciclos o

- CapeOX: El oxaliplatino 130 mg/m² durante 2 horas el día 1 más capecitabina 1.000 mg/m² dos veces al día para cada 14 días a 21 días para 4 ciclos, seguido de una reevaluación de la terapia de mantenimiento o
- mFOLFOX6 cetuximab más (sólo para KRAS no mutado tumores y si FOLFIRI o FOLFIRI y bevacizumab utiliza como quimioterapia de primera línea): Cetuximab 400 mg/m² dosis de carga en el día 1 por más de 2 horas, a continuación, cetuximab 250 mg/m² durante 1 hora semanal más oxaliplatino 85 mg/m² IV durante 2 horas el día 1 más leucovorina 400 mg/m² IV durante 2 horas el día 1 más 5-FU 400 mg/m² en bolo IV el día 1, a continuación, 1200 mg/m²/día durante la infusión continua 2do día ; repetir cada 2 semanas por 4 ciclos y luego volver a evaluar o
- Irinotecán 125 mg/m² semanal con más de 90 minutos después de la reevaluación o 8 semanas
- Cetuximab 400 mg/m² durante 2 horas el día 1, luego 250 mg/m² durante 1 hora semanal con reevaluación después de 8 semanas o
- Panitumumab 6 mg/kg durante 60-90min cada 2 semanas con reevaluación después de 8 semanas o
- FOLFOX6 más bevacizumab (si FOLFIRI fue utilizado por adelantado y bevacizumab nunca utilizado como quimioterapia de primera línea, la dosis más alta nota de bevacizumab como quimioterapia de segunda línea):
Bevacizumab 10 mg / kg durante 30 a 90 minutos el día 1 más oxaliplatino 85 mg/m² en 2 horas en el día 1 más leucovorina 400 mg/m² más de 2 horas más 5-FU 400 mg/m² en bolo IV el día 1, seguido de 5-FU 2400 mg/m² infusión intravenosa continua durante 46 horas, todo 2 semanas por 4-6 ciclos con re-evaluación para mantenimiento de la terapia (1 g de gluconato de calcio y 1 g de sulfato de magnesio pueden ser administrados 15 minutos pre infusión y post infusión para reducir el riesgo de neurotoxicidad) o
- CapeOX más bevacizumab (si FOLFIRI fue usado anteriormente y bevacizumab nunca utilizado como quimioterapia de primera línea, la dosis más alta de bevacizumab como quimioterapia de segunda línea):
Bevacizumab 15 mg/kg durante 30 a 90 minutos el día 1 más oxaliplatino 130 mg/m² por 2 horas el día 1 más capecitabina 1.000 mg/m² dos veces al

día para cada día 14 o 21 por 4 ciclos, seguido de una reevaluación de la terapia de mantenimiento o

- FOLFIRI y bevacizumab (si FOLFOX o CapeOX fue utilizado anteriormente y bevacizumab nunca utilizada como quimioterapia de primera línea): Bevacizumab 10 mg/kg durante 30 a 90 minutos el día 1 más irinotecán 180 mg/m² durante 90 minutos el día 1 más leucovorina 400 mg/m² más de 2 horas el día 1, más 5-FU 400 mg/m² IV en bolo en el día 1 seguido de 5-FU 2400 mg/m² en infusión intravenosa continua durante 46 horas, todos 2 semanas por 4-6 ciclos con una reevaluación de la terapia de mantenimiento o
- Referencia para ensayo clínico
En los regímenes anteriores, el cetuximab se puede reemplazar con panitumumab en todos los 6mg/kg por 2 semanas si ha experimentado anafilaxis con cetuximab.

Tercera línea de quimioterapia para la enfermedad metastásica:

- Panitumumab ha sido aprobado por la FDA, para el tratamiento de los pacientes con EGFR (receptor del factor de crecimiento epidérmico) que expresan el carcinoma colorrectal metastásico con la progresión de la enfermedad durante o después de regímenes que contienen fluoropirimidinas, oxaliplatino o irinotecán.³⁴
Panitumumab 6 mg / kg durante 60-90 min durante 2 semanas para tumores KRAS tipo no mutado sólo con reevaluación después de 8 semanas o algún régimen incorporando un anticuerpo EGFR para pacientes con enfermedad KRAS tipo usando un citotóxico de la columna vertebral no tratado previamente o
- Referir para ensayo clínico

2.2 5-Estudios de cáncer de colon en modelos experimentales animales

La dificultad de realizar estudios prospectivos de los factores etiopatogénicos del cáncer de colon humano, hace necesario la inducción de neoplasias colónicas experimentales en animales con carcinógenos químicos.

Los modelos experimentales en roedores pueden imitar con un elevado nivel de significación muchos de los rasgos principales del cáncer colorectal humano (Corpet y Pierre, 2005), ya que permite una mejor comprensión de los mecanismos de su desarrollo y patogénesis³⁵. Asimismo replica fielmente todos los aspectos del tumor desarrollado en el hombre. Esto incluye la adquisición de alteración genética con los cambios subsiguientes en comportamiento celular y biología tumoral. Debe añadirse el potencial de provocación de metástasis e idealmente conservarse la característica de sensibilidad a la terapéutica³⁶.

La inducción de cáncer de colon se desarrolla desde 1941, con Lorenz y Stewart⁷, quienes usaron en ratones dibenzanthrecene o methylcholanthrene creando múltiples cánceres intestinales pequeños.

Ensayos de cáncer de colon en roedores han aportado información en muchos aspectos de diseños que pueden ser aplicados en prevención y tratamiento. Los datos de gran importancia en los factores que retardan disminuyen la tumoración y génesis ahora están a su alcance. Hay varias necesidades desde investigación básica en el desarrollo de modelos animales. Preguntas importantes, como las controversias sobre el papel de la grasa dietética y la fibra, sólo se resolverá si los investigadores utilizan regímenes comparables, compatibles y protocolos, informan sobre los resultados completos, y el uso de punto final y los análisis estadísticos comparables. Si las controversias simples en los modelos animales se pueden resolver, tendremos herramientas de gran alcance para una mayor investigación de la carcinogénesis en el intestino³⁷.

2.2.5.1 Principales carcinógenos utilizados en modelos experimentales animales

Los carcinógenos más frecuentemente usados son Dimetilhidrazina (DMH) y sus metabolitos N-metil-N-nitro-N-nitrosoguanina (MNNG), N-metil-Nnitrosourea (MNU) y Azoximetano (AOM).³⁸

La DMH es un agente procarcinogénico que sufre metabolismo en el hígado, dando como resultado un agente carcinogénico (ion diazonium), que es capaz de producir efectos tóxicos en lugares diferentes del colon. Este metabolito es responsable de la metilación de bases de ADN de varios órganos incluyendo células epiteliales en el compartimento proliferativo de las criptas, que dan como resultado una gran pérdida de células del colon por apoptosis y un aumento aparente en la mutación de células epiteliales del colon.³⁹

Algunos estudios también han demostrado que células epiteliales del colon de rata son capaces de metabolizar DMH en el metabolismo carcinogénico sin previo metabolismo por otros tejidos o bacterias del colon.⁴⁰

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MATERIALES

- Cromatoplasas TLC Silicagel 60F 20 x 20
- Cuba de desarrollo cromatográfico
- Campana de extracción

3.1.1 Reactivos

- Cloroformo
- Metanol
- Hidróxido de amonio concentrado
- Reactivo de Dragendorff

3.1.2 Equipos

- Molino de cuchillas Modelo : C460 PHA 6. Marca : General Electric/ Rotor : 4cuchillas (Veloc : 900 R.P.M)
- Estufa HV OVENS con aire circulante
- Balanza analítica sensible a 0.1 mg.
- Rotavapor BUCHI modelo R-205V805.
- Estereoscopio
- Microscopio Electrónico
- Contómetro
- Agitador Shaker
- Vórtex

3.1.3 Material biológico:

- Hojas, Raíz, Tallo o Fruto de las especies seleccionadas, desecadas y pulverizadas
- Huevos fértiles de *Tetrapygus niger* (Erizos de Mar).
- 30 ratones machos
- 20 ratas albinas
- 45 ratas albinas

- Agua destilada
- Agua de mar fresca
- Dimetilsulfóxido (DMSO) MERCK
- 1,2-dimetilhidrazina(DMH)MERCK
- Suero Fisiológico

3.1.4 Otros materiales

- Beakers: 100, 250, 600 mL
- Viales transparentes de 30 mL
- Jeringas limpias y agujas hipodérmicas
- Pipetas Pasteur limpias-Láminas portaobjetos y cubreobjetos
- Papel filtro (Pliegos de filtración lenta)
- Embudos
- Viales de color ámbar con tapa
- Pinzas
- Tijeras
- Placas Petri
- Micropipeta 5-25 uL

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Selección de muestras

Las especies vegetales fueron colectadas en base a sus propiedades antiinflamatorias y usos tradicionales contando con el asesoramiento del biólogo José Campos de la Cruz

- Las plantas nativas utilizadas fueron.

Muestra 1: *Thevetia peruviana* (Tevetia).

Para el estudio fue colectada en el departamento de Amazonas.

Muestra 2: *Gentianella thyrsoides* (Hook.) Fabris (Japalan shacoj)

La especie estudiada fue colectada del departamento de Cajamarca.

Muestra 3: *Pseudobombax cajamarcanus* Fern (Beldaco)

Para el estudio ha sido colectada sobre los 4000 m de altitud en el departamento de Ancash.

Muestra 4: *Allamanda weberbaueri* Markgr (Flor amarilla)

Fue colectada en el departamento de Amazonas.

Muestra 5: *Aristeguietia ballii*(Oliv.)R.M.King& H. Rob(Asmachilca)

Fue colectada en el departamento de Lima.

Muestra 6: *Iresine weberbaueri* Suess (Flor blanca) Fue

colectada en el bosque seco de Amazonas.

Muestra 7: *Melocactus bellavistensis* (Cactus globoso)

Para el estudio fue colectada en el departamento de Cajamarca.

3.2.2 Extracción de alcaloides

Las siete muestras frescas fueron sometidas a inactivaron de enzimas con etanol y posteriormente se dejaron desecar en la estufa HV OVENS a una temperatura de 45°C por 48 horas.

En seguida se disminuyó el tamaño de partícula con un molino de cuchillas Modelo: C460 PHA 6.Marca : General Electric/ Rotor : 4cuchillas (Veloc : 900 R.P.M. Esta muestra se dejó reposar con hidróxido de amonio por 24 horas, en recipientes completamente cerrados y posteriormente se procedió a la extracción con cloroformo.

3.2.3 Análisis Cromatográfico de los alcaloides

Para determinar la presencia de alcaloides, realizamos varias pruebas de CCF (cromatografía en capa fina)

Se procedió a realizar la cromatografía en capa fina tomando 7 cromatoplasmas de silicagel 60F de 20 x 20 cm, usando como medio de solventes cloroformo:metanol (8:0,8 v/v) y como revelador el reactivo de Dragendoff .

La concentración de alcaloides totales fue expresada en:

Alta concentración	+++	Poca
concentración	++	
Escasa concentración	+	

3.2.4 Actividad Citotóxica en *Tetrapygus niger* (erizos de mar)

El Bioensayo de citotoxicidad en huevos fértiles de erizo de mar ⁴¹ es una prueba muy rápida utilizada como método de screening genotóxico-teratogénico para sustancias aisladas o mezclas complejas a partir de los extractos vegetales⁴². Éste permitió conocer el grado de citotoxicidad que puede provocar los extractos de las plantas mencionadas anteriormente a una determinada concentración.

Para la realización del bioensayo de citotoxicidad se recolectaron los erizos de mar de Ancón apoyado en la tabla de mareas =30
(Fuente: IMARPE)

3.2.4.1. Obtención de gametos

Los erizos de mar de ambos sexos fueron separados.

Desafortunadamente, los sexos del erizo de mar no pueden ser distinguidos por alguna característica externa.

Sin embargo, la inyección de pequeñas cantidades de KCI en el celoma indujo al erizo a eliminar los gametos. El sexo del animal fue determinado

al observar el color de los gametos extraídos de los poros de la superficie aboral (dorsal) del animal a los pocos minutos de la inyección.

a. Se colocaron los erizos adultos en discos Petri con la superficie aboral (opuesta a lo lejos de la boca) hacia abajo, e inducimos la eliminación de los gametos inyectando 1 o 2 ml. de KCl 0.5M a través de la membrana que rodea la abertura oral. Evitamos la posible contaminación de los huevos con el esperma usando una jeringa y aguja separada para cada animal, o lavando la misma jeringa y aguja con agua hirviendo antes de cada inyección.

b. Los huevos granates fueron colectados invirtiendo a la hembra en un beacker con agua de mar helada (10°C-12°C). El nivel de agua en el beacker se encontró de tal manera que los poros genitales ("gonadóporos") de la hembra estén cubiertos con agua. Los huevos fueron lavados decantando el agua sobrenadante y reemplazándolo con agua de mar helada fresca. Este procedimiento sirvió para remover fluido celómico, espinas rotas y restos de superficie del cuerpo del agua. Los fluidos celómicos alteran el proceso de fertilización. Los huevos se lavaron al menos dos veces, quedando listos para la fertilización.

c. Los espermatozoides activos, a diferencia de los huevos, son viables sólo por un tiempo limitado en agua de mar. Por tal motivo, fue necesario mantener el esperma quiescente al colectarlos bajo condiciones de "sequedad" (suspensión no diluida). Una pequeña porción de la suspensión se diluye en agua de mar cada vez que espermatozoides activos son necesarios.

3.2.4.2 Fertilización

a. El procedimiento de fertilización involucra agregar una cantidad apropiada de suspensión de espermatozoides a la suspensión de huevos. Una suspensión de espermatozoides diluida fue preparada colocando una gota de los "secos" o no diluidos espermatozoides en un disco conteniendo 10 ml de agua de mar fría. Mezclamos con una pipeta limpia hasta obtener una suspensión lechosa uniforme. Se colocó muchas gotas de huevos lavados en

un beaker con alrededor de 100 ml de agua de mar. Luego, se agregó una gota de suspensión de espermatozoides diluida. Suavemente se mezclaron los espermatozoides y los huevos con una pipeta limpia.

b. Inmediatamente se transfirió una muestra de la suspensión de huevos y espermatozoides a una lámina excavada. Se colocó un cubreobjeto, y se llevó a observación con un microscopio compuesto. El evento más conspicuo es la observación de la membrana de fertilización. La aparición de la membrana de fertilización es una indicación de que la unión del espermatozoide y el huevo ha ocurrido.

3.2.4.3 Preparación de las muestras

Se prepararon una batería de viales con las concentraciones respectivas a 0,11 mg/mL y 0,055 mg/mL para cada extracto, realizándose este procedimiento por duplicado, a cada vial se le agregó 1 mL de agua de mar doblemente filtrada y 2 mL de extracto disuelto en 10 μ L de DMSO. Luego se añadió 2 mL de agua de mar filtrada con los huevos previamente fecundados.

En total se obtuvieron 18 viales; 14 pertenecientes a las concentraciones antes mencionadas, 2 para el control de la muestra y 2 para el control del DMSO (dimetilsulfóxido).

Se guardaron por 24 y 48 horas a bajas temperaturas y con movimiento en el agitador shaker y oxigenador para mantener la aireación de las células.

3.2.4.4 Bioensayo de citotoxicidad

Después de las 24 horas se observó en el estereoscopio el proceso de división y si el extracto en comparación con el blanco fue afectado, es decir si hubo citotoxicidad o no.

Se procedió al conteo a las 24 horas y luego a las 48 horas. El conteo se realizó en el estereoscopio, observando las diferentes fases en el microscopio electrón

3.3 ESTUDIO FARMACOLÓGICO DE LOS ALCALOIDES de *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso)

Para el estudio de toxicidad y actividad antitumoral se precedió a preparar la muestra. Luego de la operación del secado y disminución del tamaño de partícula se obtuvo 152,5 g . En la extracción neta de alcaloides, el peso fue de 53,58 mg aproximadamente, de 152,5 g de muestra seca y molida, que equivale a un rendimiento del 0,00114% del peso total del tallo del *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso)

Peso inicial del tallo fresco= 4,7 Kg

Peso después del secado y disminución del tamaño de partícula= 152,5 g

Peso después de la extracción neta de alcaloides =53,58 mg

Rendimiento = $\frac{4,7 \text{ kg}}{53,58 \text{ mg}} \times 100\% = 0,00114\%$

Los alcaloides totales obtenidos fueron purificados y concentrados en el evaporador rotatorio BUCHI.

Para la administración peroral se mezcló con tween 20, la cual se repitió semanalmente.

3.3.1 ESTUDIO DE TOXICIDAD DEL EXTRACTO DE ALCALOIDES DE *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso)

3.3.1.1 Observación de la toxicidad aguda a dosis única buscando encontrar la dosis letal 50 de los alcaloides de *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso) administrado por vía oral en ratones.

Treinta ratones machos cepa Balb C57 fueron adquiridos del Instituto Nacional de Salud, y con peso promedio de 26 ± 1 g al inicio del experimento los cuales fueron mantenidos en un cuarto a temperatura controlada de 20 ± 2 °C con un ciclo de luz/oscuridad de 12-12 h. La alimentación consistió en ratonina peletizada y agua a voluntad.

Los ratones fueron distribuidos al azar en grupos de seis cada uno. Se les administró la sustancia por vía oral (ver tabla 3), Los animales fueron observados constantemente durante las primeras 24 h, continuando la misma diariamente durante un período de 14 días, registrando cualquier síntoma tóxico que pudiese presentarse.

Tabla 3. Diseño experimental para toxicidad aguda en ratones

Grupo	Tratamiento	Unidades experimentales	Dosis mL/kg	Muertos	Vivos
1	S. S. F	6	10		
2	Extracto	6	103		
	Extracto	6	1004		
	Extracto	6	500		
5	Extracto	6	1000		

3.3.1.2 Observación de toxicidad a dosis repetidas en ratas al administrar por vía oral los alcaloides para observar posibles cambios hematológicos, bioquímicos e histopatológicos.

Veinte ratas (diez hembras y diez machos), adquiridas del Bioterio del Instituto Nacional de Salud, de 260 ± 10 gramos de peso corporal, de aproximadamente dos meses y medio de edad, fueron agrupadas en dos grupos, grupo 1, el grupo control conformado por cinco hembras y cinco machos recibieron 2 mL/kg de suero fisiológico; y el grupo 2 conformado de cinco hembras y cinco machos recibieron por vía oral 5 mg/kg del extracto de alcaloides de *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso). La administración fue durante cuatro meses; al cabo del cual se les extrajo muestra de sangre por punción cardiaca para realizar estudios hematológicos y bioquímicos, se les administro 100 mg/kg de pentobarbital sódico (dosis letal) , retirándose el hígado y riñón para estudios morfológicos; los órganos fueron conservados en formol tamponado (agua destilada 900 ml; formaldehído 37% 100 mL; fosfato de sodio monobásico 4 g; fosfato de sodio dibásico 6,5 g)

3.3.2 ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTITUMORAL DEL EXTRACTO DE ALCALOIDES DE *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso) SOBRE EL CÁNCER DE COLON INDUCIDO POR DIMETILHIDRAZINA EN RATAS

Se indujo el cáncer de colon a 45 ratas Holtzmann con 1,2- dimetilhidrazina (DMH) según Namasivayam y col., 2004⁴³, con modificaciones en pesos de ratas. en el tiempo de administración de DMH. Los animales utilizados para el estudio tenían dos meses y medio de edad con pesos 260 ± 10 g; divididas aleatoriamente según el siguiente diseño experimental:

Tabla 4. Diseño experimental para estudio de actividad antitumoral en ratas

Grupo	Tratamiento	Unidades experimentales
1	Normal (SSF) 2 mL/kg	(1-9)
2	Dimetilhidrazina (DMH) 20 mg/kg	(10-18)
3	DMH + extracto de alcaloides de <i>Melocactus bellavistensis</i> 1 mg/kg	(19-27)
4	DMH + extracto de alcaloides de <i>Melocactus bellavistensis</i> 5 mg/kg	(28-36)
5	DMH + extracto de alcaloides de <i>Melocactus bellavistensis</i> 10 mg/kg	(36-45)

La dimetilhidrazina (DMH) fue preparado como una solución conteniendo 400 mg de DMH disuelto en 100 mL de agua destilada estéril, conteniendo 37 mg de EDTA como agente estabilizador y mantenida a pH 6,5 con hidróxido de sodio. Se administró 20 mg/kg de peso corporal por vía subcutánea una vez a la semana, durante 18 semanas. Se administró por vía oral el extracto de alcaloides de *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso) y el suero fisiológico por medio de una sonda metálica, iniciándose simultáneamente con la primera inoculación de DMH hasta las 18 semanas que duró el estudio.

Los pesos de los animales fueron evaluados semanalmente durante las 18 semanas que duró el estudio (se expresó en gramos).

El último día del estudio una hora después de la administración del extracto de alcaloides, se extrajo muestra de sangre mediante punción cardiaca para análisis hematológico y bioquímico, luego fueron sacrificados con pentobarbital 100 mg/kg, extrayéndose el intestino, hígado y riñón los que fueron conservados en una solución tamponada de formol al 10% para posterior estudio histopatológico.

3.3.2.1 Análisis histopatológico

Se retiró el colon y fue lavado suavemente con solución salina para remover la sangre y los detritos adheridos al tejido; zonas de masa tumoral fueron fijadas en solución de formol al 10%, tamponado por 7 días; luego, se seleccionó partes de 3-5 µm y fueron incluidas en parafina, y posteriormente teñidas con hematoxilina y eosina. Los criterios de evaluación fueron en base a las observaciones microscópicas: Neoplasia, displasia.

3.3.2.2 Análisis hematológico y bioquímico

Los análisis bioquímicos se realizaron por métodos espectrofotométricos y el análisis hematológico se realizó por el Hemograma de Schilling

IV.-RESULTADOS

4.1 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO PARA DETERMINACIÓN DE ALCALOIDES

Después de realizar varias pruebas en CCF, se obtuvieron los siguientes resultados, en orden descendiente de concentración de alcaloides:

- 1) *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso) (+++)
- 2) *Thevetia peruviana* (Tevetia) (++)
- 3) *Aristeguietia ballii* (Oliv.)R.M.King& H. Rob(Asmachilca (++)
- 4) *Pseudobombax cajamarcanus*Fern (Beldaco) (++)
- 5) *Gentianella thyrsoides* (Hook.) Fabris (Japalan shacoj) (++)
- 6) *Allamanda weberbaueri* Markgr (Flor amarilla) (++)
- 7) *Iresine weberbaueri* Suess (Flor blanca) (+)

Todas las especies estudiadas mostraron reacción positiva frente al reactivo de Dragendorff para determinación de alcaloides.

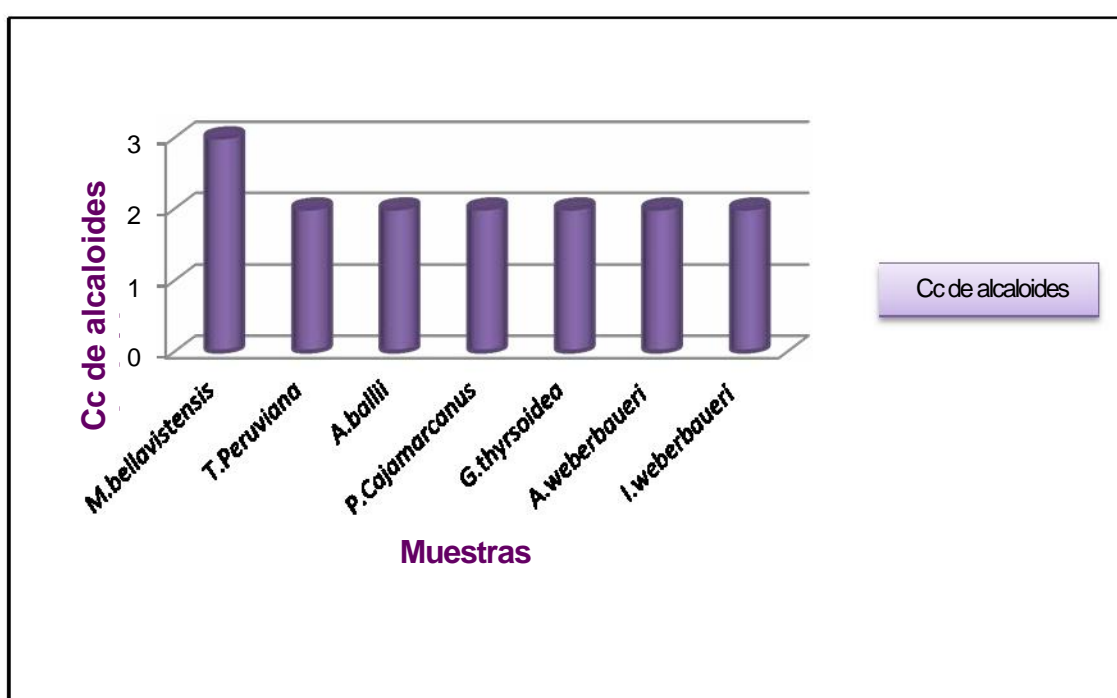


Figura 16. Concentración de alcaloides en muestras nativas

4.2 ACTIVIDAD CITOTÓXICA EN *Tetrapygus niger* (erizos de mar)

Tabla 5. Porcentaje de citotoxicidad de la concentración de 0,11 y 0,055 mg/mL del extracto de alcaloides de 7 plantas en huevos fértiles de erizo de mar con blanco y DMSO

Muestra	Concentración	CONTEO A LAS 24 HORAS		CONTEO A LAS 48 HORAS	
		% vivos	% MUERTOS	% vivos	% MUERTOS
BLANCO	-	59,32	40,68	76,53	23,47
DMSO	0,11 mg/mL	62,57	37,43	78,95	21,05
	0,055mg/mL	83,14	16,86	86,06	13,94
Muestra 1	0,11 mg/mL	45,21	54,79	47,83	52,17
	0,055mg/mL	55,87	44,13	73,77	26,23
Muestra 2	0,11 mg/mL	48,74	51,26	46,69	53,31
	0,055mg/mL	52,38	47,62	49,97	50,03
Muestra 3	0,11 mg/mL	51,73	48,27	43,48	56,52
	0,055mg/mL	45,83	54,17	51,05	48,95
Muestra 4	0,11 mg/mL	66,29	33,71	51,88	48,13
	0,055mg/mL	47,26	52,74	63,05	36,95
Muestra 5	0,11 mg/mL	44,58	55,42	39,49	60,51
	0,055mg/mL	43,94	56,06	48,64	51,36
Muestra 6	0,11 mg/mL	59,78	40,22	41,79	58,21
	0,055mg/mL	50,00	50,00	64,15	35,85
Muestra 7	0,11 mg/mL	38,35	61,65	35,56	64,44
	0,055mg/mL	16,97	83,03	38,14	61,86

Leyenda:

Muestra 1: *Thevetia peruviana* (Tevetia)

Muestra 2: *Gentianella thyrsoides* (Hook.) Fabris (Japalan shacoj)

Muestra 3: *Pseudobombax cajamarcanus* Fern (Beldaco)

Muestra 4: *Allamanda weberbaueri* Markgr (Flor amarilla)

Muestra 5: *Aristeguietia ballii*(Oliv.)R.M.King& H.Rob(Asmachilca)

Muestra 6: *Iresine weberbaueri* Suess (Flor blanca)

Muestra 7: *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso)

DMSO: Dimetilsulfóxido

Tabla 6. Porcentaje de citotoxicidad de la concentración a 0,055 mg/mL del extracto de alcaloides de 7 plantas en huevos fértiles de erizo de mar en orden decreciente de mortalidad a las 24 horas

MUESTRA	CONTEO 24 horas		CONTEO 48 horas	
Concentración 0,055 mg/mL	% Muertos	% Vivos	% Muertos	% Vivos
7	83,03	16,97	61,86	38,14
5	56,06	43,94	51,36	48,64
3	54,17	45,83	48,95	51,05
4	52,74	47,26	36,95	63,05
6	50,00	50,00	35,85	64,15
2	47,62	52,38	50,03	49,97
1	44,13	55,87	26,23	73,77

Se puede observar en orden decreciente del porcentaje de mortalidad, indicados con amarillo los extractos más representativos; Muestra 7: *Melocactus bellavistensis*(cactus globoso), Muestra 5: *Aristeguietia ballii* (Oliv.)R.M.King& H. Rob(Asmachilca), Muestra 3: *Pseudobombax cajamarcanus* Fern (Beldaco) .

Tabla 7. Porcentaje de citotoxicidad de la concentración a 0,055 mg/mL del extracto de alcaloides de 7 plantas en huevos fértiles de erizo de mar en orden decreciente de mortalidad a las 48 horas

MUESTRA	CONTEO 24 horas		CONTEO 48 horas	
Concentración 0,055 mg/mL	% Muertos	% Vivos	% Muertos	% Vivos
7	83,03	16,97	61,86	38,14
5	56,06	43,94	51,36	48,64
2	47,62	52,38	50,03	49,97
3	54,17	45,83	48,95	51,05
4	52,74	47,26	36,95	63,05
6	50,00	50,00	35,85	64,15
1	44,13	55,87	26,23	73,77

Se puede observar en orden decreciente del porcentaje de mortalidad, indicando con amarillo los extractos más representativos; Muestra7: *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso). muestra 5: *Aristeguietia ballii*(Oliv.)R.M.King& H. Rob(Asmachilca), muestra 2:*Gentianella thyrsoides* (Hook.) Fabris (Japalan shacoj).

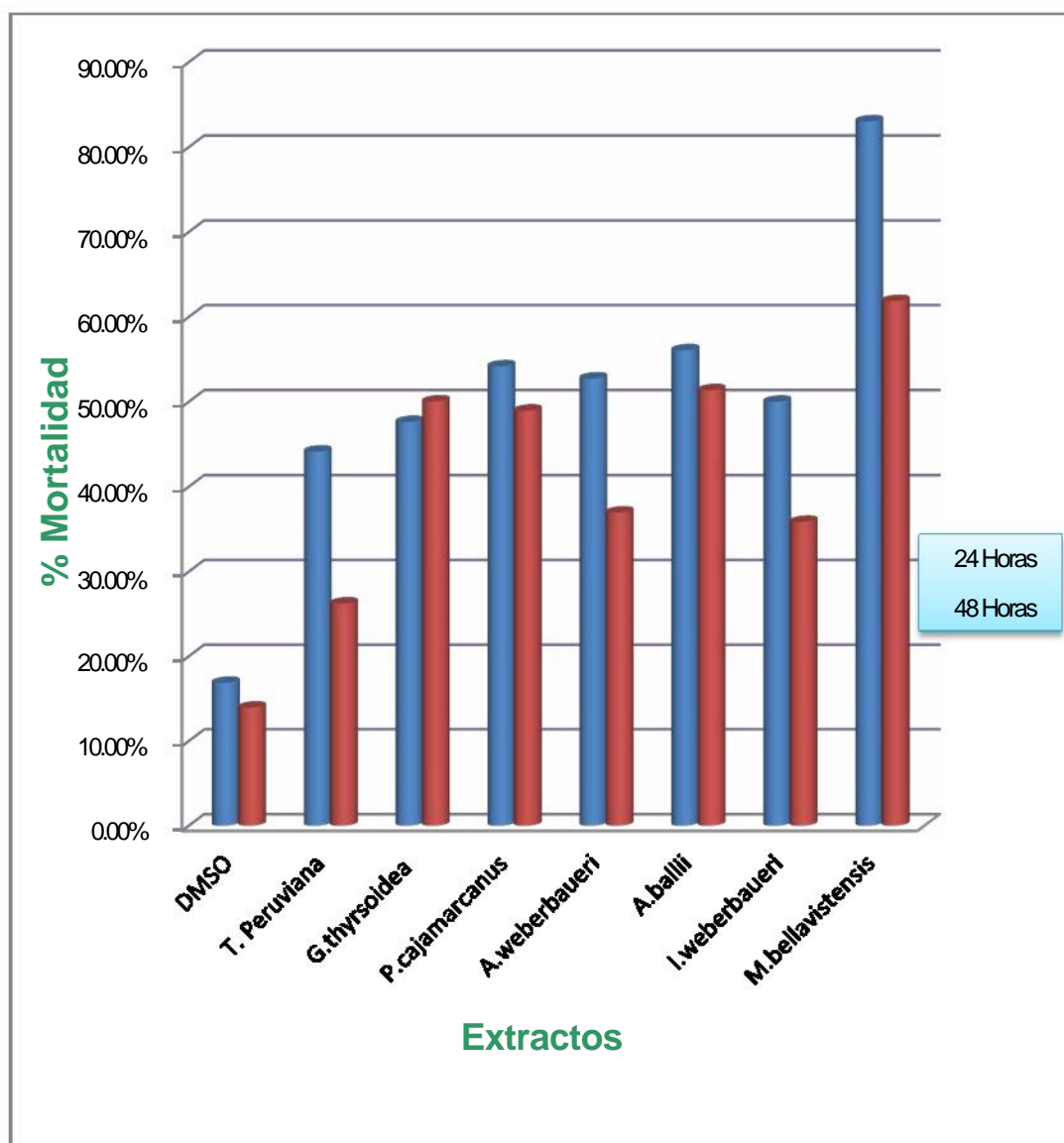


Figura 17. Citotoxicidad de la concentración a 0.055 mg/mL del extracto de alcaloides de 7 plantas en huevo fértil de erizo de mar

En el presente cuadro se compara los porcentajes de mortalidad expresado en barras, donde se evidencia la Muestra 7: *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso), muestra 5: *Aristeguietia ballii* (Oliv.) R.M.King & H.Rob (Asmachilca), con los más altos porcentajes de mortalidad.

Tabla 8. Porcentaje de citotoxicidad de la concentración a 0,11 mg/mL del extracto de alcaloides de plantas en huevos fértiles de erizo de mar en orden decreciente de mortalidad a las 24 Horas

MUESTRA	CONTEO 24 horas		CONTEO 48 horas	
Concentración 0,011 mg/mL	% Muertos	% Vivos	% Muertos	% Vivos
7	61,65	38,35	64,44	35,56
5	55,42	44,58	60,51	39,49
1	54,79	45,21	52,17	47,83
2	51,26	48,74	53,31	46,69
3	48,27	51,73	56,52	43,48
6	40,22	59,78	58,21	41,79
4	33,71	66,29	48,13	51,88

Se puede observar en orden decreciente del porcentaje de mortalidad, indicados con amarillo los extractos más representativos; Muestra 7: *Melocactus bellavistensis* (Cactus globoso), muestra 5: *Aristeguietia ballii*(Oliv.) R.M.King& H. Rob (Asmachilca), muestra 1: *Thevetia peruviana* (Tevetia)

Tabla 9. Porcentaje de citotoxicidad de la concentración a 0,11 mg/mL del extracto de alcaloides de 7 plantas en huevos fértiles de erizos de mar en Orden decreciente de mortalidad a las 48 Horas

MUESTRA	CONTEO 24 horas		CONTEO 48 horas	
Concentración 0,011%	% Muertos	% Vivos	% Muertos	% Vivos
7	61,65	38,35	64,44	35,56
5	55,42	44,58	60,51	39,49
6	40,22	59,78	58,21	41,79
3	48,27	51,73	56,52	43,48
2	51,26	48,74	53,31	46,69
1	54,79	45,21	52,17	47,83
4	33,71	66,29	48,13	51,88

Se puede observar en orden decreciente del porcentaje de mortalidad, indicados con amarillo los extractos más representativos; Muestra 7: *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso), muestra 5: *Aristeguietia ballii*(Oliv.)R.M.King& H. Rob(Asmachilca), muestra 6: *Iresine weberbaueri* Suess (Flor blanca), Muestra 3 : *Pseudobombax cajamarcanus* Fern (Beldaco), muestra 2 : *Gentianella thyrsoides* (Hook.) Fabris (Japalan shacoj)

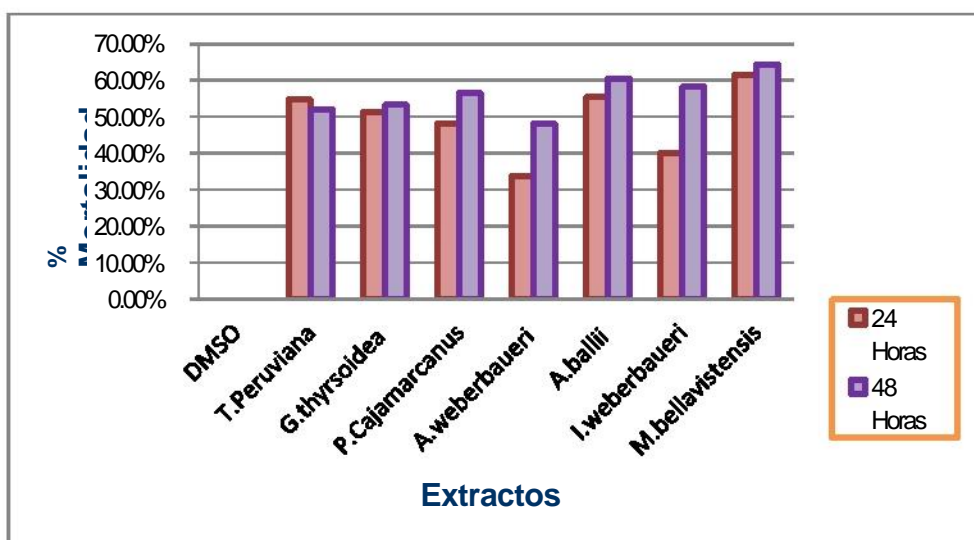


Figura 18. Citotoxicidad de la concentración a 0.11 mg/mL del extracto de alcaloides de 7 plantas en huevo fértil de erizo de mar

En el presente cuadro se compara los porcentajes de mortalidad expresado en barras, donde se evidencia la Muestra 7: *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso) y muestra 5: *Aristeguietia ballii* (Oliv.)R.M.King& H. Rob (Asmachilca), con los más altos porcentajes de mortalidad

4.3 ESTUDIO FARMACOLÓGICO DE LOS ALCALOIDES DE *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso).

4.3.1 ESTUDIO DE TOXICIDAD DEL EXTRACTO DE ALCALOIDES DE *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso).

4.3.1.1 Resultado del estudio de toxicidad buscando encontrar la dosis letal 50 del extracto de alcaloides de *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso)

Tabla 10. Toxicidad a dosis única en ratones.

N	Tratamiento	n	Dosis	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Muertes	Vivos
1	Suero fisiológico	6	10 mL/kg	26 ± 1	28 ± 2	0	6
2	Extracto	6	10 mg/kg	26 ± 1	28 ± 1	0	6
3	Extracto	6	100 mg/g	26 ± 1	27 ± 0,5	0	6
4	Extracto	6	500 mg/kg	26 ± 1	27 ± 1	0	6
5	Extracto	6	1000 mg/kg	26 ± 1	27 ± 2	0	6

Al administrar por vía oral a ratones el extracto de alcaloides de *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso); en las dosis ensayadas no indujo cambios ni muertes a las seis y 24 horas de observación; llegando a permanecer los ratones en aparente buen estado general durante los quince días de observación

4.3.1.2 Resultado del estudio de toxicidad a dosis repetidas por vía oral del extracto de alcaloides de *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso) en ratas.

En la tabla 11 y figura 19, se observa que por administración de dosis repetidas por vía oral de los alcaloides de *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso) a ratas normales, existe un incremento de peso corporal ($p < 0,0001$).

Tabla 11. Evolución del peso corporal en ratas que recibieron 5 mg/kg por vía oral del extracto de alcaloides de *Melocactus bellavistensis*

Semana	Grupo control (g)	Con Alcaloides
0	261,1	266,8
1	261	284,7
2	267,5	293,7
6	292,8	315,1
8	302,4	339,6
10	299,4	327,5
12	322,9	356
14	309,6	390,2
16	337	382
18	372,6	394,3

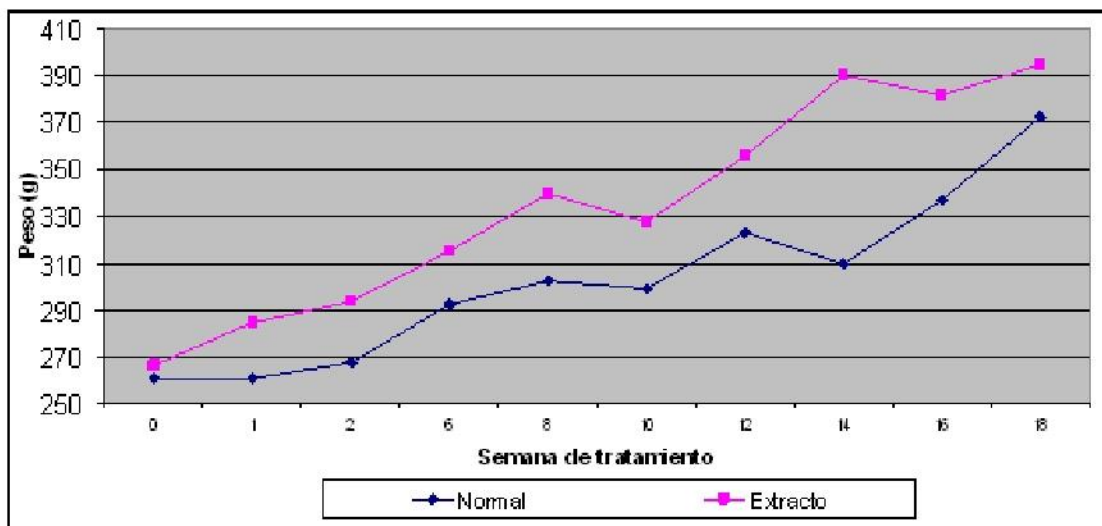


Figura 19. Evolución del peso corporal en ratas normales que recibieron 5mg/kg por vía oral del extracto de alcaloides de *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso)

4.3.1.3 Estudio Bioquímico

El estudio bioquímico plasmático indicó un incremento de la glucosa ($p < 0,019$) (Figura 20), disminuyó el HDL ($p < 0,049$), el colesterol se mantiene casi similar al grupo control ($p < 0,974$) (Figura 21), los triglicéridos (Figura 22) son incrementados ($p < 0,634$); la urea ($p < 0,374$) (Figura 23) y creatinina ($p < 0,017$) (Figura 24) disminuyen; se presentó aumento de bilirrubina indirecta ($p < 0,009$) (Figura 25). El estudio hematológico reveló disminución de hematíes ($p < 0,708$) (Figura 26), los leucocitos ($p < 0,425$) (Figura 27) y monocitos ($p < 0,332$) se encuentran incrementados.

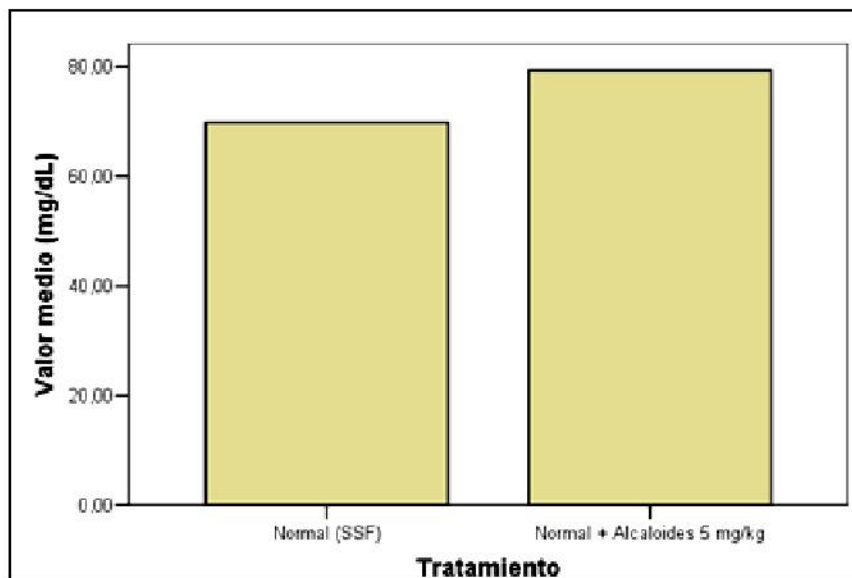


Figura 20. Efecto sobre el nivel de glucosa en sangre al administrar 5mg/kg por vía oral del extracto de alcaloides de *Melocactus bellavistensis* a ratas normales.

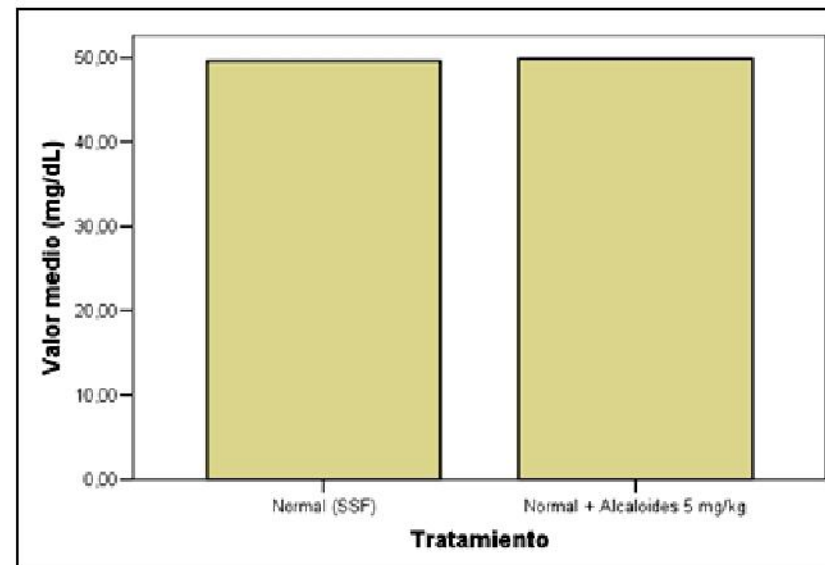


Figura 21. Efecto sobre el nivel de colesterol en sangre al administrar 5mg/kg por vía oral del extracto de alcaloides de *Melocactus bellavistensis* a ratas normales.

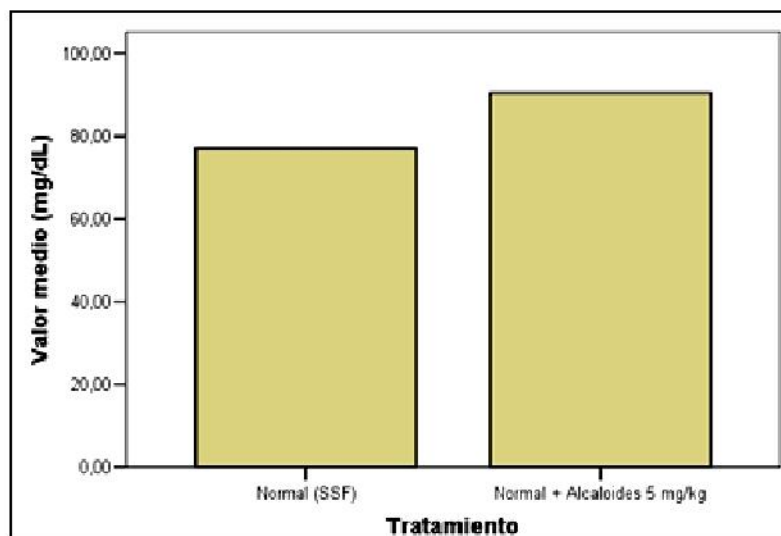


Figura 22. Efecto sobre el nivel de triglicéridos en sangre al administrar 5mg/kg por vía oral del extracto de alcaloides de *Melocactus bellavistensis* a ratas normales.

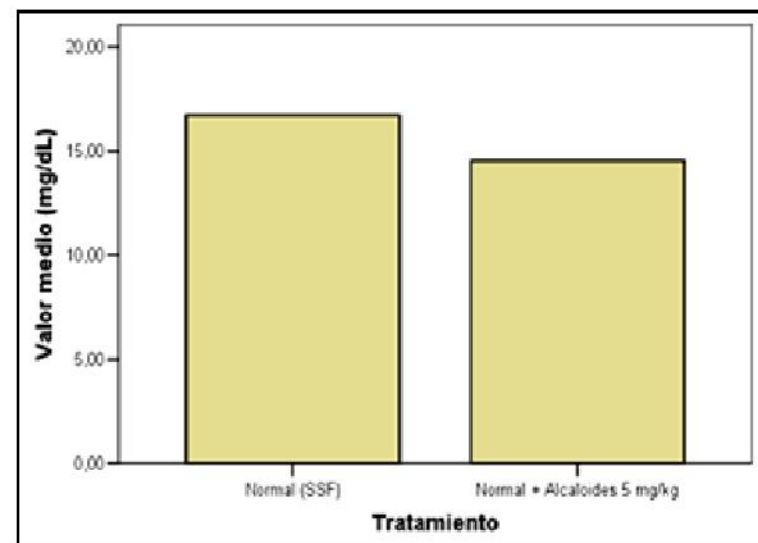


Figura 23. Efecto sobre el nivel de urea en sangre al administrar 5mg/kg por vía oral del extracto de alcaloides de *Melocactus bellavistensis* a ratas normales.

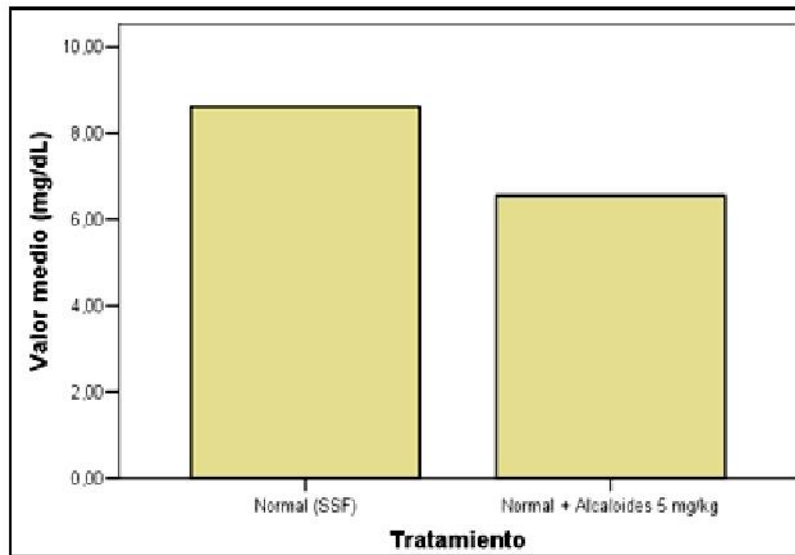


Figura 24. Efecto sobre el nivel de creatinina en sangre al administrar 5mg/kg por vía oral del extracto de alcaloides de *Melocactus bellavistensis* a ratas normales.

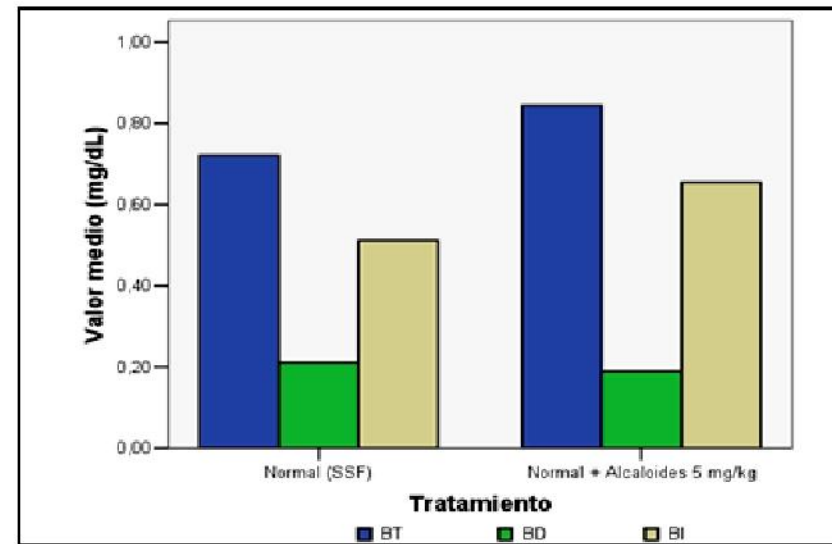


Figura 25. Efecto sobre el nivel de bilirrubina en sangre al administrar 5mg/kg por vía oral del extracto de alcaloides de *Melocactus bellavistensis* a ratas normales.

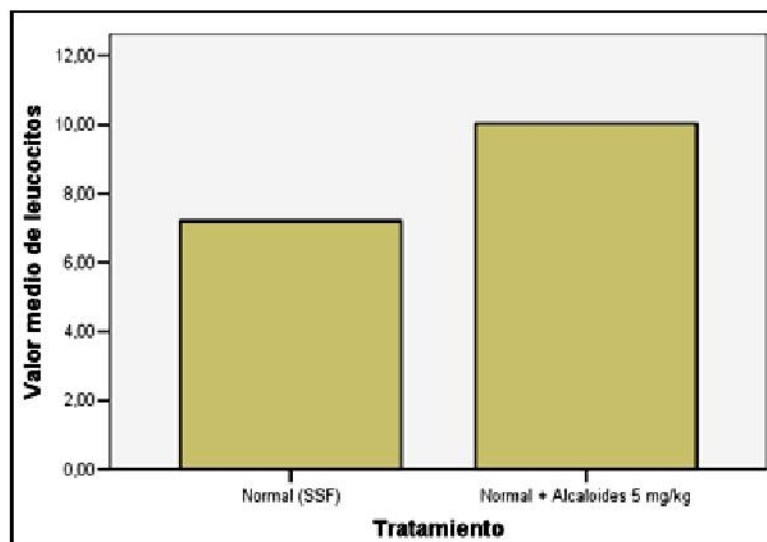


Figura 26. Efecto sobre el nivel de hematófies en sangre al administrar 5mg/kg por vía oral del extracto de alcaloides de *Melocactus bellavistensis* a ratas normales.

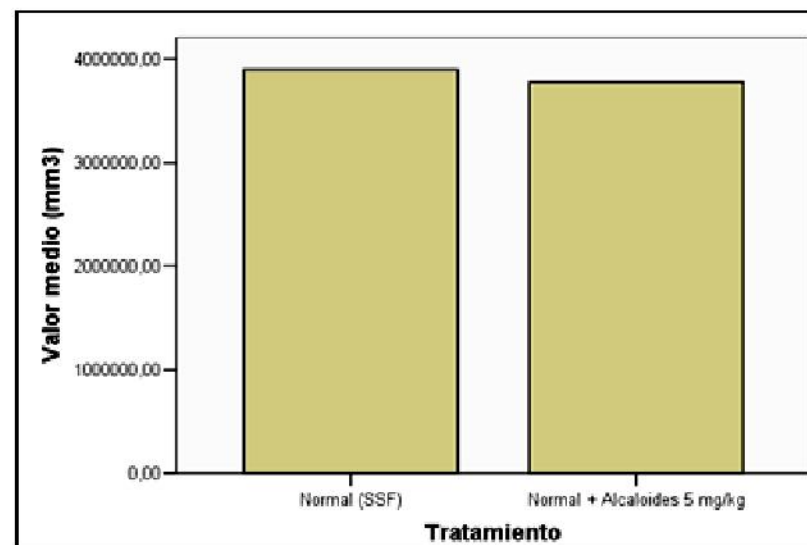


Figura 27. Efecto sobre el nivel de leucocitos en sangre al administrar 5mg/kg por vía oral del extracto de alcaloides de *Melocactus bellavistensis* a ratas normales.

4.4-ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTITUMORAL DEL EXTRACTO DE ALCALOIDES DE *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso) SOBRE EL CÁNCER DE COLON INDUCIDO POR DIMETILHIDRAZINA EN RATAS

4.4.1 Evaluación del peso corporal en ratas con cáncer de colon inducido por dimetilhidrazina (DMH)

Tabla 12. Evolución del peso corporal de ratas con inducción del cáncer de colon
por dimetilhidrazina (DMH) y que recibieron extracto de alcaloides de
Melocactus bellavistensis (cactus globoso)

Semana	Normal SSF	DMH 20 mg/kg	DMH+Extracto de alcaloides 1 mg/kg	DMH+Extracto de alcaloides 5 mg/kg	DMH+Extracto de alcaloides 10 mg/kg
0	261,1	263,8	267	269	262,1
1	261	263,8	303,3	304	276,2
2	267,5	262	313,2	312	285,4
6	292,8	282,1	350,2	342,3	293,1
8	302,4	297,7	359,2	359	303,8
10	299,4	282,2	353,5	355,1	310,2
12	322,9	316,1	372,3	360,9	327,4
14	309,6	330	391	383,1	338,1
16	337	350,2	394,7	384,2	321,6
18	372,6	331,6	394,3	385,5	326,1

Al final de la semana 18, la evolución del peso corporal de ratas con inducción del cáncer de colon por dimetilhidrazina (DMH) y que recibieron extracto de alcaloides de *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso) ha indicado aumento del peso en los animales con respecto a los que recibieron sólo DMH, excepto en la semana del 16 al 18 para DMH+ extracto de alcaloides de *Melocactus bellavistensis* a 10mg/kg. Así los pesos ganados por el grupo DMH + extracto de alcaloides a 1mg/kg fueron mayores que el grupo DMH + extracto de alcaloides a 5mg/kg, y éstos a su vez mayores que grupo Normal (SSF), y éstos mayores que el grupo DMH y estos mayores que el grupo DMH + extracto de alcaloides a 10 mg/kg

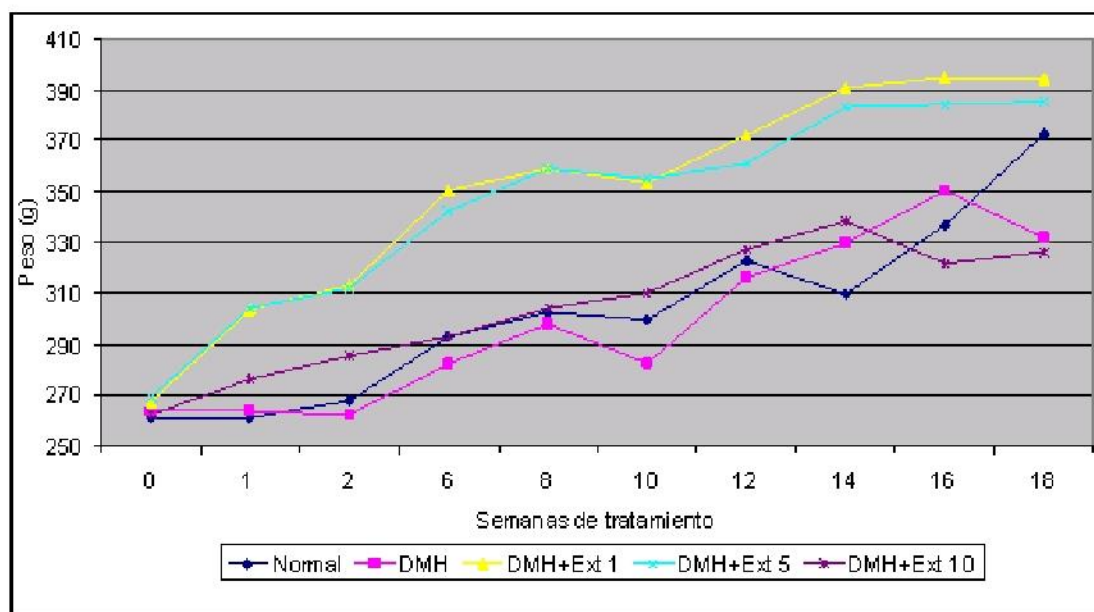


Figura 28 .Evolución del peso corporal en grupos de ratas con inducción de cáncer de colon con dimetilhidrazina y con extracto de alcaloides de *Melocactus bellavistensis* a diferentes concentraciones

4.4.2 Estudio Histopatológico

a.-Normal (SSF) 2 mL/kg

Infiltración de colágeno

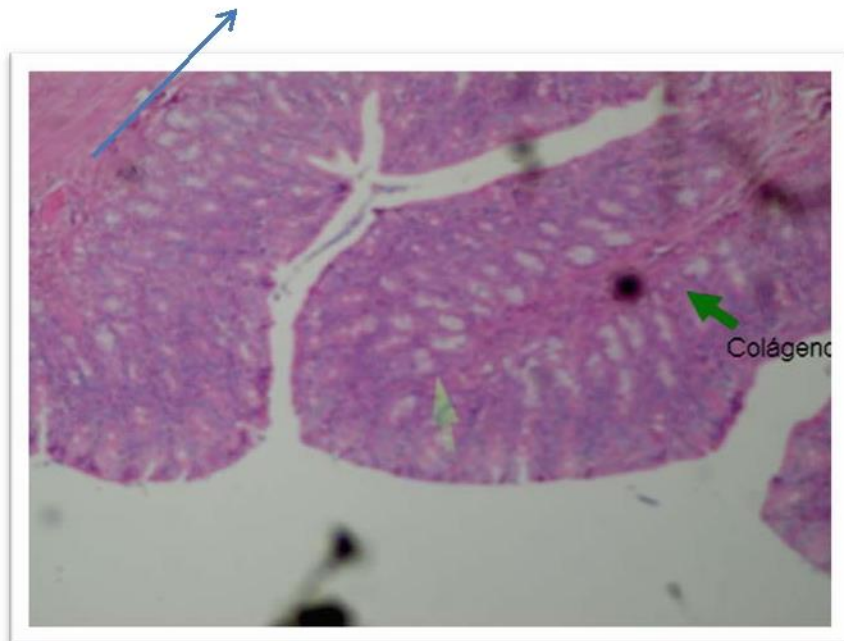


Figura 29. Se observa la infiltración de colágeno en la capa Mucosa.

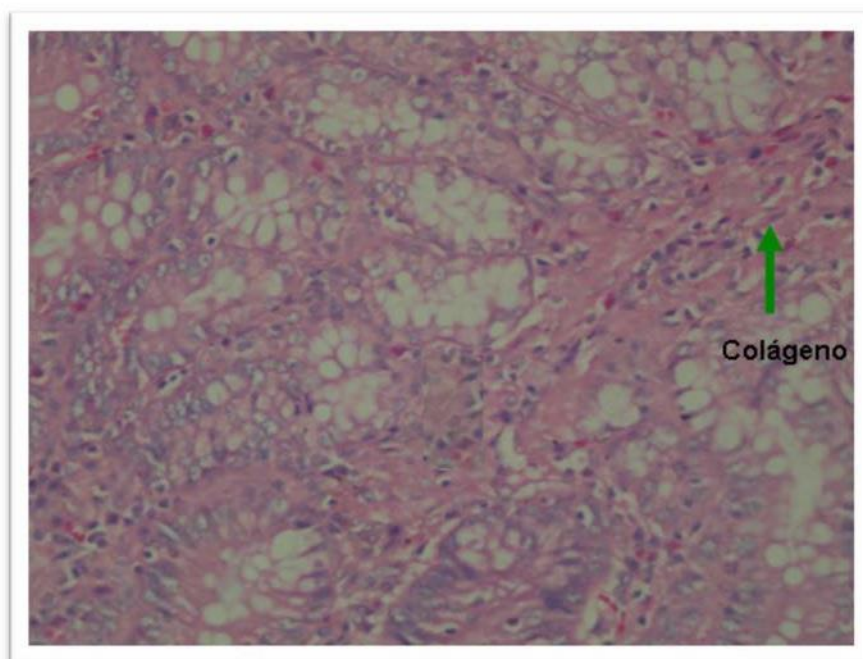


Figura 30. Mucosa con infiltración colágena escasa.

b.- Control Dimetilhidrazina (DMH) 20 mg/kg

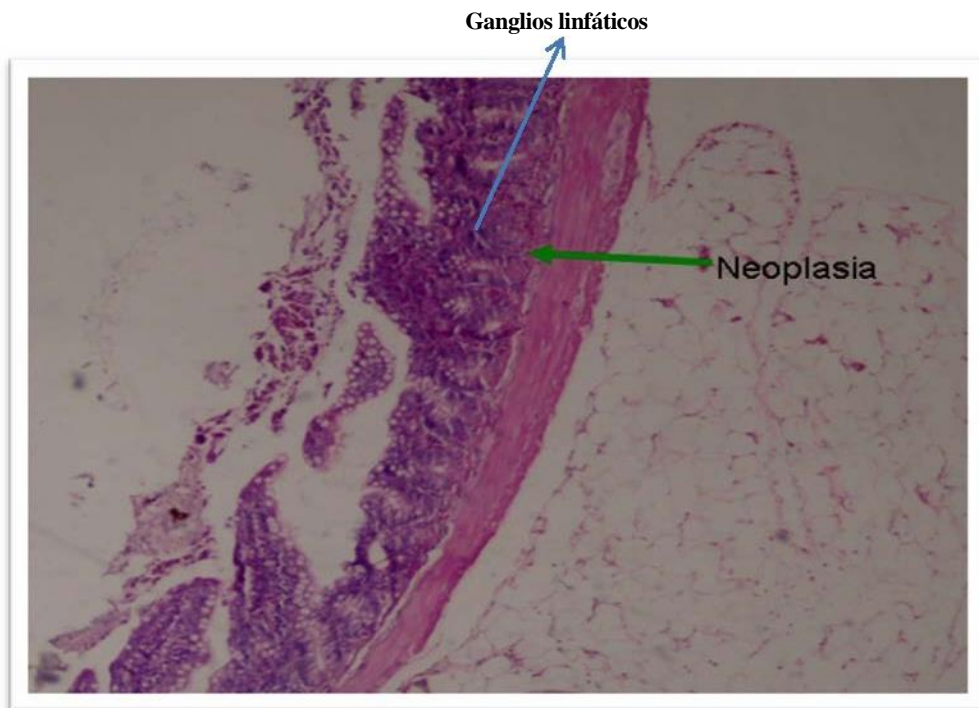


Figura 31. Colon con ganglios hipertrofiados, hipertrofia de placas de peyer; conjunto de células redondas (macrófagos y células plasmáticas aumentadas en el intersticio que hace relieve en luz a manera de penacho, crecimiento anormal)

NEOPLASIA

c.- Dimetilhidrazina (DMH) + Extracto de alcaloides 1 mg/kg

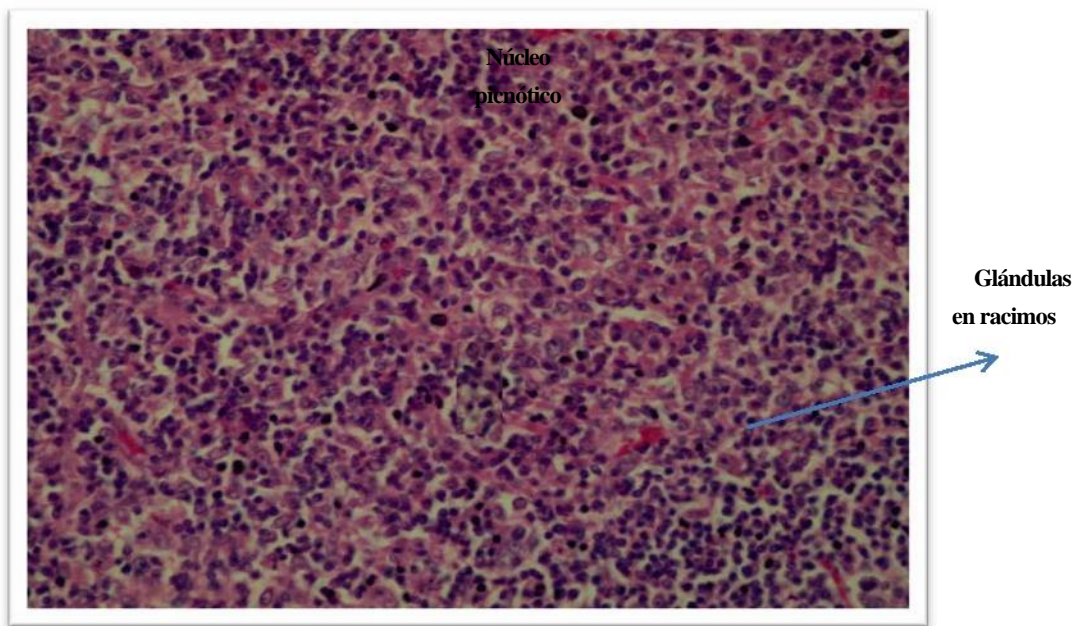


Figura 32. Células de núcleo picnótico en la base de las glándulas de células basales, algunas agrupadas en forma de ramilletes, indicando polimorfonucleares con anisonucleosis (núcleos de distinto tamaño y poiqilonucleosis) DISPLASIA.

d.- Dimetilhidrazina (DMH) + Extracto de alcaloides 5 mg/kg

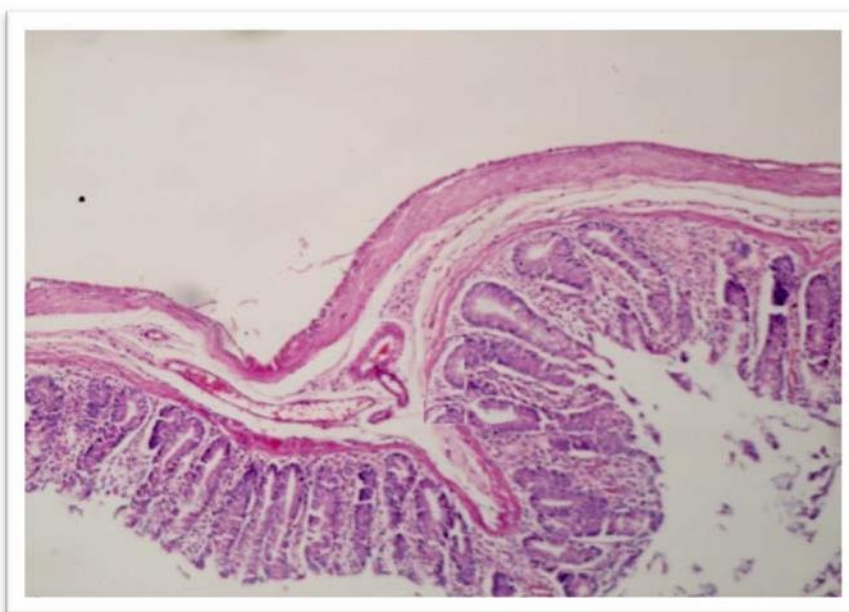


Figura 33. Colon con menor área de células basales

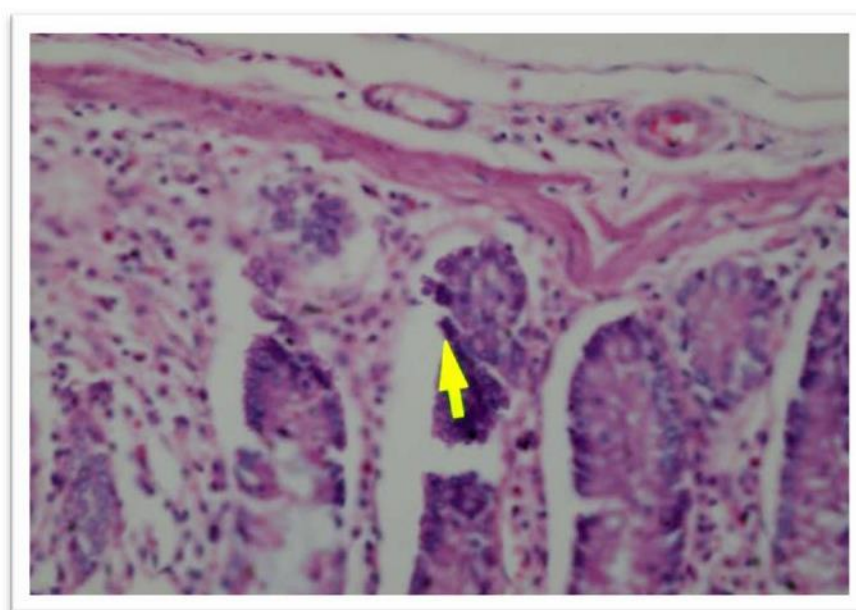


Figura 34. Las glándulas basales están reemplazadas por células displásicas caracterizadas por anisonucleosis, picnosis polimorfonucleosis .

e.- Dimetilhidrazina (DMH) + Extracto de alcaloides 10 mg/kg

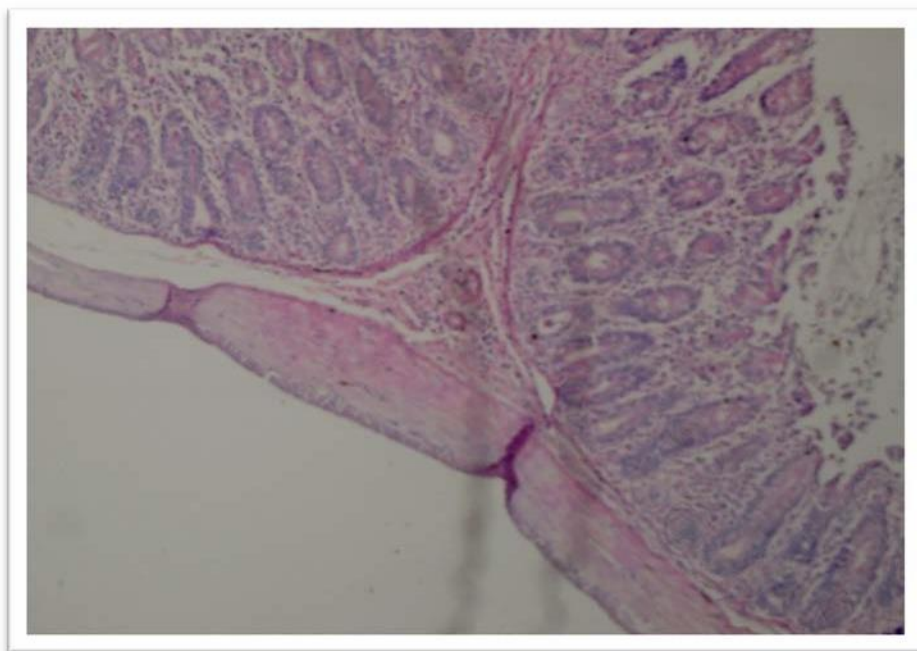


Figura 35. Colon con infiltración discreta rumbo a la normalidad

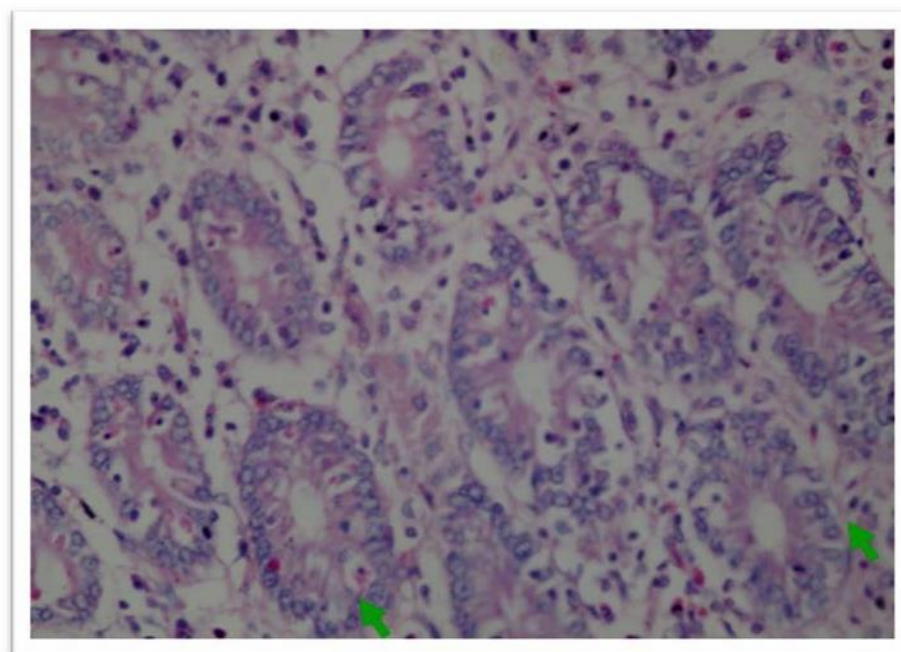


Figura 36. Monocitos. Sin alteración

Tabla 13. Observaciones histopatológicas del colon de ratas con inducción del cáncer de colon por dimetilhidrazina (DMH) y que recibieron los extractos de alcaloides de *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso)

Nro	Tratamiento	Observaciones histopatológicas
1	Normal (SSF) 2 mL/kg	Sin cambios
2	Dimetilhidrazina 20 mg/kg	Colon con placas de peyer con ganglios hipertrofiados, hipertrofia de placas de peyer; conjunto de células redondas (macrófagos y células plasmáticas en el intersticio que hace relieve en luz a manera de penacho, crecimiento anormal. NEOPLASIA
3	DMH +Extracto de alcaloides 1 mg/kg	Picnosis, células de núcleo picnótico en la base de las glándulas de células basales, algunas agrupadas en forma de ramilletes, indicando polimorfonucleares con anisonucleosis (núcleos de distinto tamaño y dirección) DISPLASIA
4	DMH +Extracto de alcaloides 5 mg/kg	Colon con menores áreas de células basales, las glándulas basales están reemplazadas por células displásicas caracterizadas por anisonucleosis, picnosis, polimorfonucleosis.
5	DMH + Extracto de alcaloides 10 mg/kg	Colon con infiltración discreta rumbo a la normalidad, existen monocitos. Sin alteración.

En esta tabla se muestran las observaciones histopatológicas del colon de ratas con inducción del cáncer de colon por dimetilhidrazina (DMH) y que recibieron los alcaloides de *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso)

4.4.3 Análisis estadístico

El efecto quimioprotector fue analizada mediante análisis de varianza aplicándose el test de múltiples comparaciones de Duncan, los resultados fueron expresados por medias \pm error estándar; para los diferentes análisis se consideraron una $p < 0.05$

4.4.4 Estudio Bioquímico y hematológico

Al administrar durante 18 semanas los alcaloides de *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso) en ratas con inducción de cáncer de colon, se aprecian los siguientes hallazgos:

El estudio hematológico expresó: aumento de los hematíes lo que se ve reducido con el tratamiento de los alcaloides de *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso); se aumenta el nivel de hemoglobina en el grupo tratado con el extracto de alcaloides (Figura 37,38 y 39); asimismo, los leucocitos se incrementan más en el grupo tratado con 5 mg/kg del extracto de alcaloides (Figura 40).

El estudio bioquímico reveló, incremento de la bilirrubina con el DMH y un disminución con la administración de los alcaloides de *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso) (Figura 41) en dosis de 1 y 5 mg/kg; igual comportamiento sigue la urea(Figura 42). El HDL del grupo tratado se mantiene casi similar al grupo control (Figura 43).

Tabla 14. Estudio bioquímico y hematológico de la determinación de la actividad antitumoral del extracto de alcaloides *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso) sobre el cáncer de colon inducido por dimetilhidrazina en ratas

Variable	Tratamiento	Valor medio	Error estándar	Intervalo confianza 95%		Mínimo	Máximo
				Inferior	Superior		
Glucosa	Normal (SSF)	69,8	2,5	64,1	75,6	59,1	80,0
	Dimetilhidrazina (DMH) 20 mg/kg	70,4	2,2	65,4	75,4	61,6	82,5
	DMH + Alcaloide 1 mg/kg	74,0	2,1	69,1	78,8	65,6	88,0
	DMH + Alcaloide 5 mg/kg	72,4	3,4	64,8	80,0	52,5	90,0
	DMH + Alcaloide 10 mg/kg	78,9	1,9	74,4	83,4	72,0	88,0
Colesterol	Normal (SSF)	49,6	8,0	31,1	68,1	24,2	109,2
	Dimetilhidrazina (DMH) 20 mg/kg	35,5	1,1	33,1	37,9	28,9	40,4
	DMH + Alcaloide 1 mg/kg	37,9	1,4	34,6	41,2	29,4	43,9
	DMH + Alcaloide 5 mg/kg	42,8	3,8	34,3	51,2	29,1	71,1
	DMH + Alcaloide 10 mg/kg	44,4	0,8	42,7	46,2	42,1	49,4
HDL	Normal (SSF)	16,0	1,7	12,1	19,9	10,8	24,9
	Dimetilhidrazina (DMH) 20 mg/kg	11,7	0,4	10,7	12,6	9,9	13,8
	DMH + Alcaloide 1 mg/kg	12,1	0,8	10,3	13,8	9,3	16,7
	DMH + Alcaloide 5 mg/kg	12,2	0,8	10,4	13,9	9,3	16,3
	DMH + Alcaloide 10 mg/kg	12,1	0,7	10,3	13,8	9,3	14,7
LDL	Normal (SSF)	20,8	2,6	14,8	26,9	11,9	33,0
	Dimetilhidrazina (DMH) 20 mg/kg	15,8	1,1	13,3	18,3	10,3	21,9
	DMH + Alcaloide 1 mg/kg	16,3	0,9	14,2	18,4	11,9	20,1
	DMH + Alcaloide 5 mg/kg	18,9	2,0	14,4	23,3	10,2	30,2
	DMH + Alcaloide 10 mg/kg	18,4	0,4	17,3	19,4	16,8	20,2
Triglicéridos	Normal (SSF)	77,1	20,6	29,5	124,7	18,6	210,1
	Dimetilhidrazina (DMH) 20 mg/kg	48,3	3,1	41,2	55,4	37,1	62,8
	DMH + Alcaloide 1 mg/kg	59,2	5,9	46,0	72,5	46,7	101,4
	DMH + Alcaloide 5 mg/kg	74,2	12,8	45,3	103,1	27,4	168,0
	DMH + Alcaloide 10 mg/kg	73,5	7,0	57,1	90,0	52,4	110,6
Urea	Normal (SSF)	16,7	1,9	12,4	21,0	11,0	29,1
	Dimetilhidrazina (DMH) 20 mg/kg	22,4	2,3	17,2	27,6	11,4	33,4
	DMH + Alcaloide 1 mg/kg	15,9	1,9	11,7	20,2	5,6	23,6
	DMH + Alcaloide 5 mg/kg	16,2	1,0	13,9	18,5	11,5	22,0
	DMH + Alcaloide 10 mg/kg	18,8	1,4	15,4	22,2	10,3	23,3
Creatinina	Normal (SSF)	8,6	0,7	7,1	10,2	5,6	11,7

BT	Dimetilhidrazina (DMH) 20 mg/kg	6,7	0,3	6,1	7,3	5,6	8,3
	DMH + Alcaloide 1 mg/kg	8,0	0,5	6,9	9,0	6,2	10,2
	DMH + Alcaloide 5 mg/kg	8,8	0,8	6,9	10,6	5,3	14,1
	DMH + Alcaloide 10 mg/kg	9,3	0,8	7,3	11,2	6,5	11,8
	Normal (SSF)	0,7	0,0	0,6	0,8	0,5	0,9
BD	Dimetilhidrazina (DMH) 20 mg/kg	0,7	0,1	0,6	0,9	0,5	1,1
	DMH + Alcaloide 1 mg/kg	0,8	0,0	0,7	0,9	0,6	1,0
	DMH + Alcaloide 5 mg/kg	0,7	0,1	0,6	0,9	0,4	1,0
	DMH + Alcaloide 10 mg/kg	0,8	0,1	0,6	0,9	0,5	0,9
	Normal (SSF)	0,2	0,0	0,2	0,3	0,1	0,3
BI	Dimetilhidrazina (DMH) 20 mg/kg	0,2	0,0	0,1	0,2	0,1	0,3
	DMH + Alcaloide 1 mg/kg	0,2	0,0	0,1	0,3	0,1	0,4
	DMH + Alcaloide 5 mg/kg	0,2	0,0	0,1	0,3	0,1	0,4
	DMH + Alcaloide 10 mg/kg	0,2	0,0	0,1	0,3	0,1	0,3
	Normal (SSF)	0,5	0,0	0,4	0,6	0,4	0,7
GOT	Dimetilhidrazina (DMH) 20 mg/kg	0,6	0,1	0,4	0,7	0,4	0,9
	DMH + Alcaloide 1 mg/kg	0,6	0,0	0,5	0,6	0,4	0,8
	DMH + Alcaloide 5 mg/kg	0,5	0,0	0,4	0,6	0,3	0,6
	DMH + Alcaloide 10 mg/kg	0,6	0,1	0,4	0,7	0,3	0,7
	Normal (SSF)	59,0	9,7	36,6	81,4	10,0	96,0
GTP	Dimetilhidrazina (DMH) 20 mg/kg	53,3	8,2	34,7	71,9	8,0	85,0
	DMH + Alcaloide 1 mg/kg	45,4	4,4	35,4	55,4	18,0	74,0
	DMH + Alcaloide 5 mg/kg	64,2	6,9	48,6	79,8	41,0	98,0
	DMH + Alcaloide 10 mg/kg	58,5	8,2	39,2	77,8	37,0	97,0
	Normal (SSF)	18,7	2,0	14,1	23,3	12,0	26,0
Hematies	Dimetilhidrazina (DMH) 20 mg/kg	19,3	2,0	14,7	23,9	13,0	34,0
	DMH + Alcaloide 1 mg/kg	21,9	1,8	17,8	26,0	12,0	31,0
	DMH + Alcaloide 5 mg/kg	20,5	2,3	15,2	25,8	8,0	32,0
	DMH + Alcaloide 10 mg/kg	20,1	1,3	17,0	23,2	16,0	26,0
	Normal (SSF)	3900000,0	299698,9	3208893,0	4591107,0	2100000,0	5520000,0
	Dimetilhidrazina (DMH) 20 mg/kg	3414000,0	184915,6	2995691,9	3832308,1	2600000,0	3950000,0
	DMH + Alcaloide 1 mg/kg	4287000,0	89629,5	4084244,0	4489756,0	3800000,0	4730000,0

	DMH + Alcaloide 5 mg/kg	3998000,0	200171,0	3545181,7	4450818,3	2750000,0	4700000,0
	DMH + Alcaloide 10 mg/kg	3733750,0	33431,0	3654698,2	3812801,8	3630000,0	3850000,0
Leucocitos	Normal (SSF)	7,2	1,1	4,7	9,8	3,8	12,5
	Dimetilhidrazina (DMH) 20 mg/kg	4,2	0,7	2,6	5,9	2,3	9,8
	DMH + Alcaloide 1 mg/kg	7,4	0,4	6,4	8,3	4,7	9,9
	DMH + Alcaloide 5 mg/kg	8,2	1,0	6,0	10,4	1,3	12,9
	DMH + Alcaloide 10 mg/kg	7,2	0,5	6,0	8,4	5,6	10,3
Hemoglobina	Normal (SSF)	11,9	0,9	9,8	14,1	6,2	16,9
	Dimetilhidrazina (DMH) 20 mg/kg	10,5	0,6	9,2	11,7	8,0	12,1
	DMH + Alcaloide 1 mg/kg	13,2	0,3	12,6	13,8	11,6	14,3
	DMH + Alcaloide 5 mg/kg	12,3	0,6	10,8	13,7	8,3	14,5
	DMH + Alcaloide 10 mg/kg	11,4	0,1	11,1	11,7	11,0	11,8
Hematocrito	Normal (SSF)	35,6	3,1	28,4	42,7	17,0	53,0
	Dimetilhidrazina (DMH) 20 mg/kg	31,3	1,7	27,5	35,1	24,0	36,0
	DMH + Alcaloide 1 mg/kg	39,6	0,7	37,9	41,3	35,0	43,0
	DMH + Alcaloide 5 mg/kg	36,4	1,8	32,2	40,6	25,0	43,0
	DMH + Alcaloide 10 mg/kg	34,1	0,4	33,3	35,0	33,0	35,0
Segmentados	Normal (SSF)	30,4	2,2	25,5	35,4	20,0	39,0
	Dimetilhidrazina (DMH) 20 mg/kg	31,0	1,4	27,8	34,2	22,0	37,0
	DMH + Alcaloide 1 mg/kg	31,0	2,5	25,4	36,6	18,0	43,0
	DMH + Alcaloide 5 mg/kg	23,9	1,8	19,8	28,0	14,0	32,0
	DMH + Alcaloide 10 mg/kg	25,0	2,7	18,6	31,4	12,0	36,0
Linfocitos	Normal (SSF)	69,4	2,1	64,6	74,3	61,0	79,0
	Dimetilhidrazina (DMH) 20 mg/kg	70,0	2,2	65,0	75,0	63,0	88,0
	DMH + Alcaloide 1 mg/kg	70,8	3,2	63,6	78,0	56,0	84,0
	DMH + Alcaloide 5 mg/kg	75,6	1,7	71,8	79,4	68,0	85,0
	DMH + Alcaloide 10 mg/kg	73,1	3,2	65,5	80,8	59,0	88,0

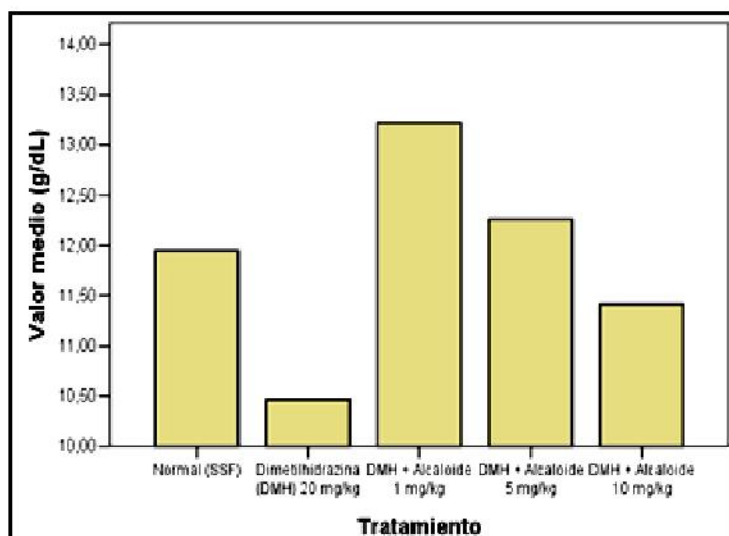


Figura 37. Efecto sobre el nivel de hemoglobina en sangre al administrar extracto de alcaloides de *Melocactus bellavistensis* normales.

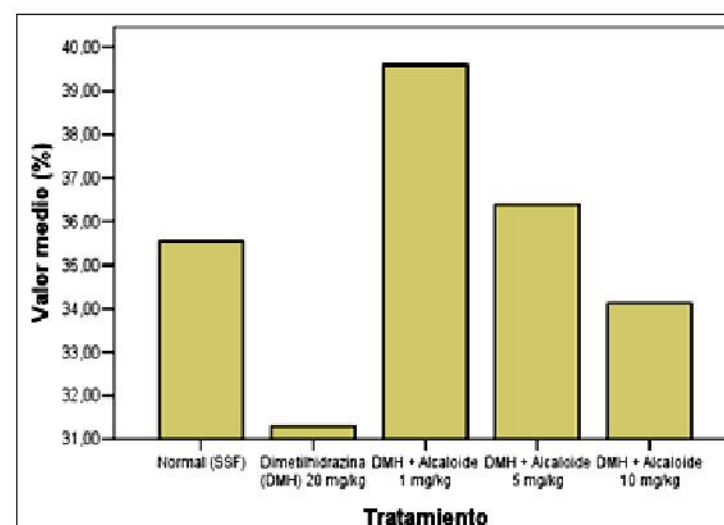


Figura 38. Efecto sobre el hematocrito en sangre al administrar extracto de alcaloides de *Melocactus bellavistensis* a ratas a ratas normales.

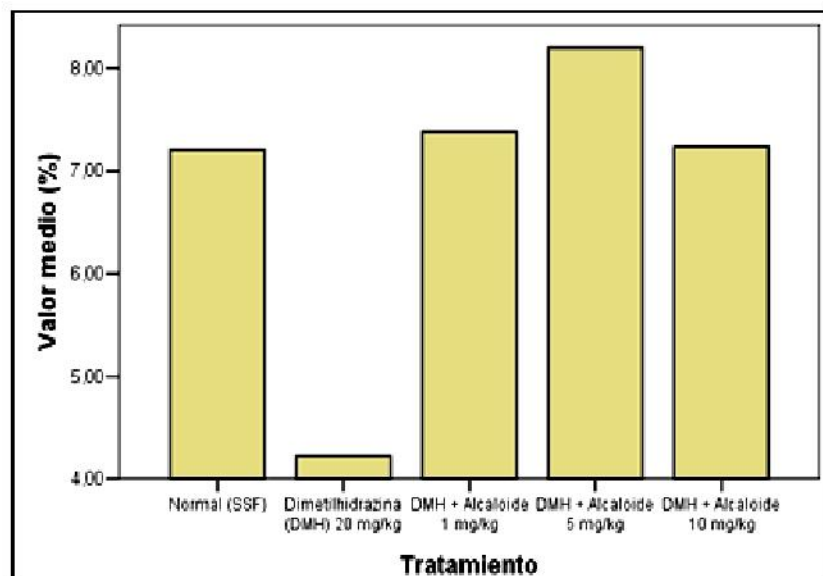


Figura 39. Efecto sobre el número de hematíes en sangre al administrar extracto de alcaloides de *Melocactus bellavistensis* ratas normales.

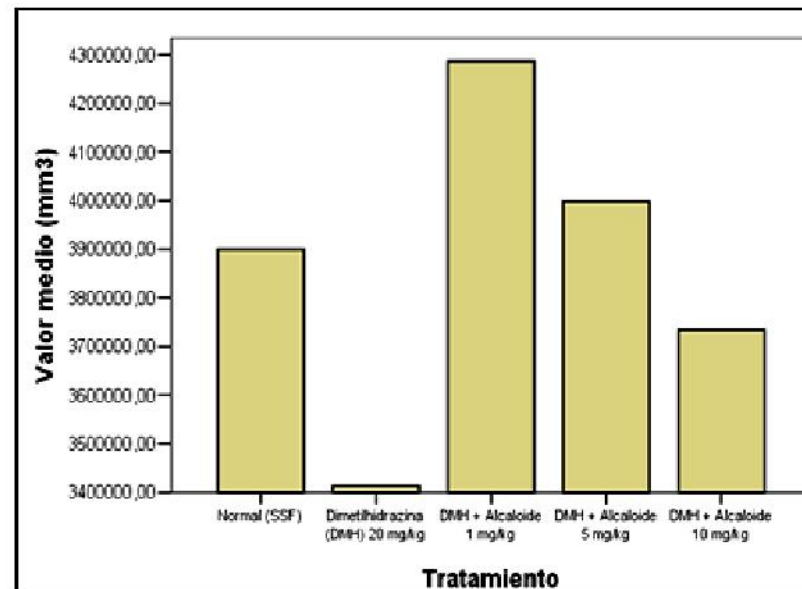


Figura 40. Efecto sobre el número de leucocitos en sangre al administrar extracto de alcaloides de *Melocactus bellavistensis* a ratas normales.

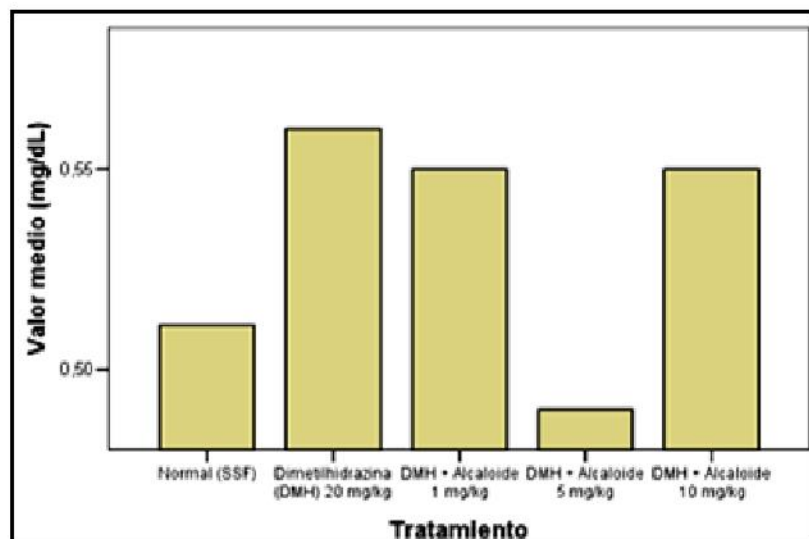


Figura 41. Efecto sobre el nivel de bilirrubina en sangre al administrar extracto de alcaloides de *Melocactus bellavistensis* normales.

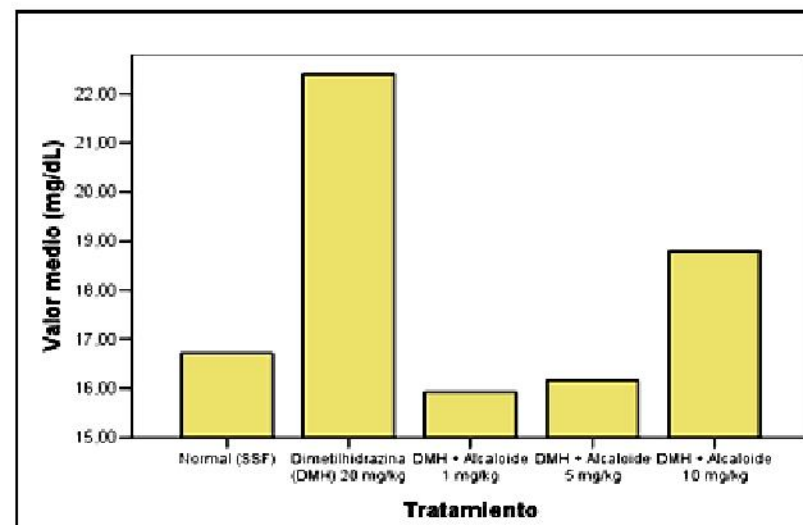


Figura 42. Efecto sobre el nivel de urea en sangre al administrar extracto de alcaloides de *Melocactus bellavistensis* a ratas normales.

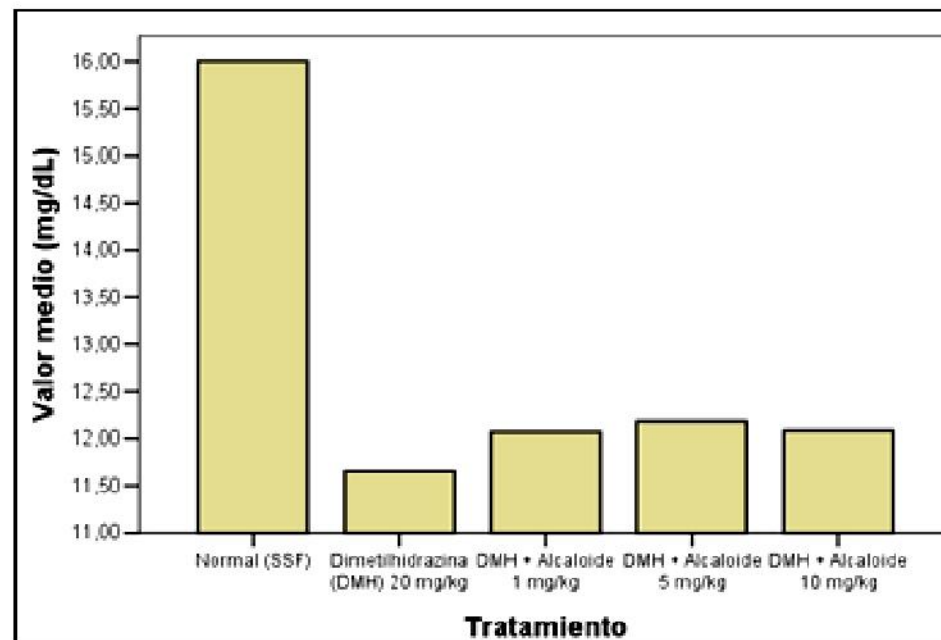


Figura 43. Efecto sobre el nivel de HDL al administrar el extracto de alcaloides de *Melocactus bellavistensis* en ratas con inducción de cáncer de colon por dimetilhidrazina (DMH).

Tabla 15. Análisis de Glucosa, colesterol, HDL, LDL, y triglicéridos de cada unidad experimental de los grupos estudiados

Muestra Nº	Glucosa	Colesterol	HDL	LDL	Triglicéridos
1	61,63	33,69	11.02	18,09	25,71
2	59,05	24,15	10.81	11,90	18,61
3	71,35	109,15	24.90	32,99	210,13
4	62,52	42,84	17.68	15,33	56,93
5	73,38	42,38	19.74	12,87	65,63
6	67,96	53,38	20.48	30,58	148,07
7	75,64	48,92	15.48	17,20	60,35
8	77,08	49,92	12.87	28,31	50,59
9	79,97	42,08	11.05	20,18	57,95
10	62,49	36,23	11.77	13,79	62,84
11	71,95	39,38	13.37	20,29	55,92
12	61,63	33,69	10.06	12,09	47,71
13	70,05	32,15	11.96	15,90	37,61

Muestra Nº	Glucosa	Colesterol	HDL	LDL	Triglicéridos
14	71,35	35,15	12,13	15,99	37,13
15	82,52	36,84	11,72	14,33	59,93
16	63,38	40,38	13,78	21,87	38,63
17	77,96	36,38	10,59	17,58	57,07
18	75,64	35,92	11,25	16,20	40,35
19	67,08	28,92	9,89	10,31	45,59
20	69,97	36,08	9,31	15,18	47,95
21	72,49	40,23	11,07	16,79	58,84
22	71,95	37,38	13,71	19,29	46,92
23	71,63	36,69	10,26	15,09	58,71
24	69,05	32,15	16,73	11,90	47,61
25	81,63	42,69	13,26	20,09	46,71
26	79,05	40,15	9,73	15,90	83,61

Muestra Nº	Glucosa	Colesterol	HDL	LDL	Triglicéridos
27	70,38	29,38	9,78	11,87	48,63
28	87,96	40,38	12,59	17,58	52,07
29	65,64	43,92	14,25	19,20	101,35
30	67,08	40,92	13,89	18,31	103,59
31	72,97	71,08	16,31	30,18	167,95
32	82,49	46,23	11,07	16,79	100,84
33	74,95	42,38	14,71	19,29	46,92
34	63,38	33,38	9,78	11,87	68,63
35	77,96	42,38	12,59	17,58	66,07
36	65,64	33,92	9,25	19,20	27,35
37	77,08	50,92	13,89	28,31	53,59
38	89,97	29,08	9,31	10,18	54,95
39	52,49	37,23	11,07	16,79	51,84
40	71,95	43,38	14,71	19,29	56,92

Muestra Nº	Glucosa	Colesterol	HDL	LDL	Triglicéridos
41	73,38	49,38	9,78	18,87	110,63
42	87,96	44,38	12,59	17,58	66,07
43	75,64	43,92	14,25	19,20	52,35
44	77,08	43,92	13,89	18,31	60,59
45	79,97	42,08	9,31	20,18	67,95

Tabla 16. Análisis de urea, creatinina, bilirrubina y transaminasas de cada unidad experimental de los grupos estudiados

Unidad experimental N°	Urea mg/dL	Creatinina mg/L	Bilirrubinas mg/dL			Transaminasa UI	
			Total	Directa	Indirecta	GOT	GPT
1	11,4	5,4	0,8	0,2	0,6	10	12
2	29,1	8,9	0,9	0,2	0,7	26	25
3	18,0	10,9	0,6	0,1	0,5	96	17
4	14,1	11,7	0,7	0,2	0,5	87	12
5	17,8	8,6	0,9	0,3	0,6	40	13
6	19,7	6,1	0,6	0,2	0,4	50	15
7	16,8	9,8	0,5	0,1	0,4	75	24
8	12,5	5,6	0,7	0,3	0,4	72	24
9	11,0	7,3	0,8	0,3	0,5	75	26
10	13,0	5,6	0,5	0,1	0,4	56	17
11	30,0	—	—	—	—	8	15
12	27,2	7,0	0,9	0,2	0,7	52	34

Unidad experimental Nº	Urea	Creatinina	Bilirrubinas			Transaminasa	
			Total	Directa	Indirecta	GOT	GPT
13	25,7	7,2	0,7	0,2	0,5	70	19
14	15,1	6,4	0,6	0,2	0,4	49	17
15	22,6	8,3	0,8	0,3	0,5	71	25
16	23,6	7,4	1,1	0,2	0,9	50	23
17	11,4	6,2	0,5	0,1	0,4	85	16
18	22,0	—	—	—	—	80	13
19	33,4	5,9	0,8	0,1	0,7	12	14
20	22,4	7,9	0,7	0,3	0,4	54	31
21	20,5	6,6	0,7	0,2	0,5	74	17
22	13,3	7,5	0,9	0,4	0,5	48	12
23	21,7	9,1	0,7	0,1	0,6	47	21
24	14,6	6,4	0,6	0,1	0,5	42	18

Unidad experimental Nº	Urea	Creatinina	Bilirrubinas			Transaminasa	
			Total	Directa	Indirecta	GOT	GPT
25	10,7	10,2	0,8	0,2	0,6	18	27
26	15,3	8,3	0,9	0,4	0,5	41	21
27	23,6	10,1	0,8	0,1	0,7	38	20
28	5,6	7,3	1,0	0,2	0,8	48	28
29	11,6	6,2	0,7	0,3	0,4	44	24
30	11,5	14,1	1,0	0,4	0,6	47	31
31	16,2	10,4	0,6	0,1	0,5	55	14
32	20,6	5,3	0,8	0,2	0,6	98	32
33	22,0	9,5	0,9	0,4	0,5	97	25
34	14,8	9,7	0,4	0,1	0,3	44	17
35	15,0	7,8	0,9	0,3	0,6	41	22
36	13,2	9,8	0,5	0,1	0,4	44	17

Unidad experimental Nº	Urea	Creatinina	Bilirrubinas			Transaminasa	
			Total	Directa	Indirecta	GOT	GPT
37	14,3	6,1	0,9	0,4	0,5	81	8
38	16,7	8,5	0,6	0,2	0,4	68	20
39	17,3	6,5	0,7	0,2	0,5	67	19
40	21,8	7,5	0,5	0,1	0,4	73	26
41	23,3	10,0	0,9	0,3	0,6	97	25
42	21,7	8,0	0,5	0,2	0,3	85	21
43	20,2	6,5	0,9	0,2	0,7	49	20
44	10,3	9,6	0,7	0,1	0,6	45	16
45	18,9	7,2	0,7	0,3	0,4	37	19

Tabla 17. Análisis hematológico de cada unidad experimental de los grupos estudiados

Unidad experimental Nº	G.R.	G.B.	Hb	Hto	Fórmula leucocitaria				
					S	L	M	E	B
1	---	---	---	---	39	61	0	0	0
2	---	---	---	---	31	69	0	0	0
3	---	---	---	---	38	62	0	0	0
4	3'630,000	3,800	11,1	33	33	67	0	0	0
5	3'740,000	10,700	11,4	34	35	65	0	0	0
6	4'160,000	5,500	12,9	38	24	76	0	0	0
7	4'420,000	12,500	13,6	40	28	72	0	0	0
8	5'520,000	4,650	16,9	53	20	79	0	0	0
9	2'100,000	7,700	6,2	17	26	74	0	0	0
10	3'950,000	5,050	12,1	36	37	63	0	0	0
11	3'940,000	3,050	12,0	36	30	70	0	0	0
12	3'920,000	9,800	12,1	36	27	73	0	0	0
13	3'700,000	3,450	11,5	34	35	65	0	0	0

Unidad experimental Nº	G.R.	G.B.	Hb	Hto	Fórmula leucocitaria				
					S	L	M	E	B
14	3'830,000	5,550	11,3	35	34	66	0	0	0
15	---	---	---	---	31	69	0	0	0
16	2'600,000	2,250	8,0	24	—	—	—	—	—
17	---	----	----	----	33	67	0	0	0
18	---	---	---	---	28	72	0	0	0
19	3'500,000	4,300	10,8	32	22	88	0	0	0
20	3'800,000	7,050	11,6	35	35	65	0	0	0
21	---	---	---	---	—	—	—	—	—
22	4'300,000	6,600	13,3	40	26	84	0	0	0
23	4'500,000	9,850	13,7	41	18	82	0	0	0
24	4'350,000	8,150	13,2	40	32	68	0	0	0
25	4'620,000	8,100	14,1	42	23	76	0	0	0
26	4'000,000	7,700	12,4	37	39	61	0	0	0

Unidad experimental Nº	G.R.	G.B.	Hb	Hto	Fórmula leucocitaria				
					S	L	M	E	B
27	4'730,000	7,550	14,3	43	37	63	0	0	0
28	4'150,000	4,650	13,5	40	43	56	0	0	0
29	4'120,000	7,600	12,8	38	31	69	0	0	0
30	4'700,000	7,250	14,5	43	14	85	0	0	0
31	2'970,000	12,900	8,9	27	25	75	0	0	0
32	---	---	---	---	22	78	0	0	0
33	4'400,000	8,650	13,6	40	—	—	—	—	—
34	4'070,000	8,300	12,4	37	21	78	0	0	0
35	2'750,000	1,300	8,3	25	—	—	—	—	—
36	4'070,000	7,450	12,4	37	29	71	0	0	0
37	4'090,000	11,550	12,5	37	—	—	—	—	—
38	4'180,000	6,850	12,8	38	32	68	0	0	0
39	4'350,000	9,100	13,6	40	22	77	0	0	0
40	3'850,000	6,450	11,7	35	36	64	0	0	0

Unidad experimental Nº	G.R.	G.B.	Hb	Ht o	Fórmula leucocitaria				
					S	L	M	E	B
41	—	—	—	—	28	72	0	0	0
42	3'800,000	7,500	11,8	35	31	69	0	0	0
43	3'820,000	5,550	11,6	35	30	59	0	0	0
44	3'710,000	5,850	11,2	34	23	77	0	0	0
45	3'630,000	10,250	11,0	33	12	88	0	0	0

Leyenda:

G.R=Glóbulos rojos

G.B=Glóbulos blancos

Hb=Hemoglobina

Hto=Hematocrito

Fórmula leucocitaria:

S=Segmentados

L=Linfocitos

M=Monocitos

E=Eosinófilos

B=Basófilos

V. DISCUSIÓN

Hasta el momento aún no se han realizado estudios sobre la citotoxicidad ni actividad farmacológica del extracto de alcaloides de *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso), razón por la cual no podemos hacer comparaciones de resultados para dicha especie. Los resultados obtenidos en presente trabajo se compararán con estudios similares realizados en otras especies.

Para determinar la especie con mayor cantidad de alcaloides, se realizó el estudio por cromatografía en capa fina, utilizando el reactivo de Dragendorff. Todas las especies estudiadas presentaron reacción positiva: *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso), *Thevetia peruviana* (Tevetia), *Aristeguietia ballii* (Oliv.) R.M. King & H. Rob (Asmachilca, *Pseudobombax cajamarcanus* Fern (Beldaco), *Gentianella thyrsoides* (Hook.) Fabris (Japalan shacoj), *Allamanda weberbaueri* Markgr (Flor amarilla), *Iresine weberbaueri* Suess (Flor blanca). De ellas, *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso), contiene mayor concentración de alcaloides, lo cual nos indicaría que las otras especies no necesariamente deben su actividad antiinflamatoria en usos tradicionales a los alcaloides presentes en ellas. El resultado de investigación de alcaloides se esquematiza en la Figura 16.

Es ampliamente conocido que especies de la familia cactaceae contienen alcaloides. Haciendo una comparación con otras especies, existen alcaloides como vincristina o vinblastina del *Catharanthus roseus* de la familia Apocynaceae con actividad antitumoral que han resultado de gran eficacia en el tratamiento de determinados tipos de cáncer, como el de mama, hígado, pulmón, leucemia y linfomas⁴⁴. Es por esta razón que el estudio presentó entre sus objetivos comprobar la actividad antitumoral del extracto de alcaloides del *Melocactus bellavistensis*.

En el ensayo de citotoxicidad en erizos de mar, para las especies estudiadas, se puede afirmar que quien presentó mayor actividad citotóxica es el extracto de alcaloides de *Melocactus bellavistensis*, donde a la concentración de 0,055 mg/mL se observa una mortalidad de 83.03 % a las 24 horas (Tabla 6) y una mortalidad de 61.86% a las 48 horas (Tabla 7), y a concentración de 0,11 mg/mL se observa una mortalidad de 61.65% a las 24 horas (Tabla 8) y una mortalidad de 64,44% a las 48 horas (Tabla 9), las demás especies como: *Thevetia peruviana* (Tevetia) mostraron 54, 79% de mortalidad a la concentración de 0,11 mg/mL y 52,17% a 0,055 mg/mL, *Gentianella*

thyrsoides (Hook.) Fabris (Japalan shacoj) un 51,26 % de mortalidad a la concentración de 0,0 11 mg/mL y 53,31 a 0,055 mg/mL, *Pseudobombax cajamarcanus* Fern (Beldaco), 48,27 % a la concentración de 0,0 11 mg/mL y 56,52% a 0,055 mg/mL, *Allamanda weberbaueri* Markgr (Flor amarilla), 33,71 % a la concentración de 0,0 11 mg/mL y 48,13 % a 0,055 mg/mL, *Aristeguietia ballii*(Oliv.)R.M.King& H.Rob (Asmachilca) 55,42% a la concentración de 0,0 11 mg/mL y 56,52% a 60,51 mg/mL, *Iresine weberbaueri* Suess (Flor blanca) 40,22% a la concentración de 0,0 11 mg/mL y 58,21 % a 0,055 mg/mL; Similar actividad muestra el estudio de Brañez y col⁴⁵ para extractos de *Solanum albidum* y *Solanum oblongifolium*, cuyos resultados fueron a las concentraciones de 0.055 mg/mL a las 24 horas con una mortalidad de 70,88% y 71,37% a las 48 horas, y 0.110 mg/mL a las 24 horas con una mortalidad de 86,67% a las 24 horas y 83,83 % a las 48 horas; observándose a dichas concentraciones daños teratogénicos, mutagenicidad, retardo en el desarrollo embrionario y citotoxicidad.

El estudio de toxicidad aguda ha mostrado que la administración por vía oral del extracto de alcaloides de *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso) a ratones a las dosis ensayadas no se indujo cambios ni muertes a las 6 y 24 horas de observación, llegando a permanecer los ratones en aparente buen estado general hasta los quince días de observación (tabla 10), esto es una indicación que en las dosis ensayadas los alcaloides presentes en el extracto de *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso) no induce la muerte, y que la dosis letal 50 es mayor a los 1000 mg/kg cuando se administra por vía oral a los ratones .

En el estudio de toxicidad aguda (Mongelli E y Col., 1995)⁴⁶ de 19 especies de plantas medicinales argentinas, realizado con huevos de *Artemia salina*, determinaron que la concentración letal 50 (DL50) fue de 10 mg de extracto/mL de solución, y varía para las diferentes especies.

En la tabla 11 y figura 19, se observa que la administración de dosis repetidas por vía oral del extracto de los alcaloides de *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso) a ratas normales produjo un incremento de peso corporal ($p < 0,0001$). El estudio bioquímico mostró un incremento de glucosa ($< 0,019$), podría por algún mecanismo no establecido ejercer un efecto diabetogénico. Los valores del HDL ($p < 0,049$) y el colesterol del grupo tratado son casi casi similar al grupo control ($p < 0,974$) y que los valores de triglicéridos están incrementados ($p < 0,634$) estaría haciendo ver que los

alcaloides producirían cuadros de dislipidemias. Los valores de la urea ($p<0,374$) y la creatinina sérica ($p<0,017$) se encuentran disminuidas, estos valores nos indicarían que el extracto de alcaloides de *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso) presentaría actividad renoprotectora; también se presentó aumento de bilirrubina indirecta ($p<0,009$), esto podría estar indicando que habría un grado de hemólisis, lo que guarda concordancia con los hallazgos de la disminución de hematíes ($p<0,708$). Al aumentar los leucocitos ($p<0,425$) y monocitos ($p<0,332$) estaría directamente relacionado con un efecto inmunoestimulante.

En este modelo de inducción de cáncer de colon por dimetilhidrazina en ratas, se observó que el grupo al que se le administró dimetilhidrazina a concentración de 20 mg/kg. presentó una mayor reducción del peso en comparación con los grupos que recibieron 1 mg/kg, 5 mg/kg y 10 mg /kg. del extracto de alcaloides de *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso) Justil y col⁴⁷, obtuvieron el mismo resultado en su estudio, donde a la misma concentración de 20 mg/kg de DMH produce una marcada reducción de peso corporal (caquexia relacionada al cáncer).

En la evaluación histopatológica del tejido de colon de las ratas tratadas con el extracto de alcaloides de *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso), se observó una menor cantidad de células de tejido colónico con morfología alterada ; así a medida que aumentaron las concentraciones del extracto de alcaloides de *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso), disminuye considerablemente el daño celular y formación de tumores, es así que a la concentración de 10 mg/kg observamos colon con infiltración discreta rumbo a la normalidad, y presencia de monocitos, a 5 mg/kg observamos anisonucleosis, picnosis, polimorfonucleosis, y a 1 mg/kg encontramos picnosis en la base de las glándulas de células basales, indicando polimorfonucleares en forma de ramilletes con anisonucleosis. De esta manera demostramos que a concentraciones de 10 mg/kg no se encontró displasia, a diferencia de a las concentraciones de 5mg/kg y 1 mg/kg, donde se ve displasia leve y marcada displasia respectivamente, y en el grupo de el colon de los animales tratados con el tóxico. Un posible mecanismo sería que la administración del extracto de alcaloides de *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso) aumentaría la capacidad del organismo de destruir las células alteradas y que ésta se encuentran en relación directa a la concentración. En un estudio con un modelo similar, Justil y Col⁴⁷ (2008) demostró el efecto antitumoral in vivo del extracto etanólico de las hojas de *Baccharis genistelloides*, encontrando que la dosis de 500 mg/kg de este extracto presenta una mayor actividad dosis dependiente, al

igual que los resultados obtenidos en nuestro estudio, ya que si la comparamos con la dosis de 10 mg/kg del extracto de alcaloides de *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso sólo mostró un ligero aumento de glándulas colónicas con infiltración discreta, además de la presencia de monocitos; similares resultados se observaron con la dosis intermedia de 250 mg/kg, dosis equivalente a la de 5 mg/kg de nuestro estudio, donde no hubo compromiso fuera de la membrana basal y con la dosis menor de 100 mg/kg, que equivaldría a la de 1mg/kg, se observó adenocarcinoma glandular; así también en cuanto a los grupos con dimetilhidrazina, en donde en ambos estudios se observó neoplasia, con tumoraciones colónicas.

VI. CONCLUSIONES

1. Se determinó mediante cromatografía de capa fina, la presencia de alcaloides en *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso), *Thevetia peruviana* (Tevetia), *Allamanda weberbaueri* Markgr (Flor amarilla), *Pseudobombax cajamarcanus* Fern (beldaco), *Gentianella thyrsoides* (Hook.) Fabris (japalan shacoj), *Iresine weberbaueri* Suess (flor blanca), *Aristeguietia ballii* (Oliv.) R.M. King & H. Rob. (Asmachilca).
2. La evaluación citotóxica en *Tetrapygus niger* (erizos de mar) realizada con los extractos de alcaloides de las siete especies, mostró que el de *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso) presentó mayor actividad citotóxica.
3. La dosis letal 50 por vía oral del extracto de alcaloides de *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso) en ratones a dosis única estaría por encima de 1000 mg/kg; y en dosis repetidas en ratas no se ha evidenciado efectos tóxicos al utilizarlo durante 18 semanas.
4. La dosis de 10 mg/kg del extracto de alcaloides de *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso) demostró mayor actividad antitumoral en cáncer de colon inducido por dimetilhidrazina en ratas.

VII. RECOMENDACIONES

1. Realizar una elucidación estructural por métodos espectrofotométricos del extracto de alcaloides de *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso)
2. Realizar ensayos farmacológicos frente a cáncer de colon del extracto de alcaloides de *Aristeguietia ballii* (Oliv.) R.M. King & H. Rob (Asmachilca).
3. Realizar un estudio con líneas celulares, del extracto de alcaloides de *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso),

VIII.REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Ferreyra R. Flora y vegetación del Perú. En: Mejía Baca J. Gran Geografía del Perú. Segunda edición. Barcelona: Manfer; 1986: p. 51-160.
2. Brako L, Zarucchi J. Catalogue of the flowering plants and gymnosperms of Peru. . St. Louis: Missouri Botanical Garden; 1993.
3. Gentry AH. A field guide to the families and genera of woody plants of northwest South America (Colombia, Ecuador y Perú) with supplementary notes on herbaceous taxa.2° ed. [s.l.]: University of Chicago press; 1996.
4. Jorgensen PM, León S. Catalogue of the vascular Plants of Ecuador. St. Louis: Missouri Botanical Garden; 1999.
5. Pennington TD, Reynel C, Daza A. Illustrated guide to the trees of Peru. Sherborne [England]: D. Hunt; 2004:
6. Perú. Ministerio del Ambiente. 101 cactus del Perú. Lima: MA; 2010: p. 184-7.
7. Doll R, Peto R. The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. J Natl Cancer Inst.1981; 66 (6): 1191-1308.
8. Koushik A, Hunter D, Spiegelman D, Beeson WL, Van den Brandt PA, Buring JE, et al. Fruits vegetables and colon cancer risk in a pooled analysis of 14 cohort studies. J Natl Cancer Inst. 2007; 99 (19): 1471-83.
9. Jacobs ET, Thompson PA, Martinez ME. Diet, gender and colorectal neoplasia. J Clin Gastroenterol. 2007; 41(8): 731-46.
10. Estadios del cáncer de colon. 278 [accesado 25 de marzo 2010] Disponible en: <http://www.cancer.gov>.
11. Pazos M. Incidencia y supervivencia del cáncer de colon y recto en la provincia de Tarragona (1980-1998) [tesis doctoral]. Reus: Universidad Rovira i Virgili, Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud; 2004
12. Edge SB, Byrd DR, Compton CC, et al. Colon and rectum. En AJCC Cancer Staging Manual. 7° ed. New York: Springer; 2010, p. 143-164.
13. Bokey EL, Moore JW, Chapuis PH, et al. Morbidity and mortality following laparoscopic-assisted right hemicolectomy for cancer. Dis Colon Rectum.1996; 39 Supl10: S24-S28.

14. The clinical outcomes of surgical therapy study group. A comparison of laparoscopically assisted and open colectomy for colon cancer. *N Engl J Med.* 2004; 350 (20): 2050-9.
15. Weeks JC, Nelson H, Gelber S, et al. Short-term quality-of-life outcomes following laparoscopic-assisted colectomy vs. open colectomy for colon cancer: a randomized trial. *JAMA.* 2002; 287 (3): 321-8.
16. Engstrom PF, Arnoletti JP, Benson AB, Chen YJ, Choti MA, Cooper HS, et al. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology: colon cancer. *J Natl Compr Canc Netw.* 2009; 7(8):778-831.
17. Tournigand C, André T, Achille E, et al. FOLFIRI followed by FOLFOX6 or the reverse sequence in advanced colorectal cancer: a randomized GERCOR study. *J Clin Oncol.* 2004;22(2):229-37
18. Kuebler JP, Wieand HS, O'Connell MJ, et al. Oxaliplatin combined with weekly bolus fluorouracil and leucovorin as surgical adjuvant chemotherapy for stage II and III colon cancer: results from NSABP C-07. *J Clin Oncol.* 2007; 25(16):2198-204.
19. Hoff PM, Ansari R, Batist G, et al. Comparison of oral capecitabine versus intravenous fluorouracil plus leucovorin as first-line treatment in 605 patients with metastatic colorectal cancer: results of a randomized phase III study. *J Clin Oncol.* 2001; 19(8): 2282-92.
20. Schwenk W, Böhm B, Müller JM: Postoperative pain and fatigue after laparoscopic or conventional colorectal resections. A prospective randomized trial. *Surg Endosc.* 1998; 12 (9): 1131-6.
21. Wolmark N, Rockette H, Fisher B, et al. The benefit of leucovorin-modulated fluorouracil as postoperative adjuvant therapy for primary colon cancer: results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project protocol C-03. *J Clin Oncol.* 1993; 11 (10): 1879-87.
22. Fuchs CS, Marshall J, Mitchell E, et al. Randomized, controlled trial of irinotecan plus infusional, bolus, or oral fluoropyrimidines in first-line treatment of metastatic colorectal cancer: results from the BICC-C Study. *J Clin Oncol.* 2007; 25 (30): 4779-86.

23. Cassidy J, Tabernero J, Twelves C, et al. XELOX (capecitabine plus oxaliplatin): active first-line therapy for patients with metastatic colorectal cancer. *J ClinOncol.* 2004;22(11):2084-91
24. Kabbinavar F, Hurwitz HI, Fehrenbacher L, et al. Phase II, randomized trial comparing bevacizumab plus fluorouracil (FU)/leucovorin (LV) with FU/LV alone in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol.* 2003;21(1): 60-5.
25. Bokemeyer C, Bondarenko I, Makhson A, et al. Cetuximab plus 5-FU/FA/oxaliplatin (FOLFOX-4) versus FOLFOX-4 in the first-line treatment of metastatic colorectal cancer (mCRC): OPUS, a randomized phase II study. *J ClinOncol.* 2007; 25(18): 4035.
26. Bokemeyer C, Bondarenko I, Hartmann J T, et al. KRAS status and efficacy of first-line treatment of patients with metastatic colorectal cancer (mCRC) with FOLFOX with or without cetuximab: the OPUS experience. *J Clin Oncol.* 2008; 26 (20): 4000
27. Van Cutsem E, Nowacki M, Lang I, et al. Randomized phase III study of irinotecan and 5-FU/FA with or without cetuximab in the first-line treatment of patients with metastatic colorectal cancer (mCRC): the CRYSTAL trial. *J ClinOncol.* 2007; 25 (18S): 4000
28. Van Cutsem E, Lang I, D'haens G, et al. KRAS status and efficacy in the first-line treatment of patients with metastatic colorectal cancer (mCRC) treated with FOLFIRI with or without cetuximab: the CRYSTAL experience. *J Clin Oncol.* 2008; 26 (20): 2.
29. Cunningham D, Humblet Y, Siena S, et al. Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med.* 2004; 351(4):337-45.
30. Amado R, Wolf M, Freeman D, et al. Panitumumab efficacy and patient-reported outcomes in MCRC patients with wild-type KRAS tumor status.ASCO [en línea] 2008 abstract 278 [accesado 25 de marzo 2010] Disponible en

http://www.asco.org/ascov2/Meetings/Abstracts?&vmview=abst_detail_view&confID=53&abstractID=10643

31. Siena S, Tabernero J, Burkes R L, et al. Phase III study (PRIME/20050203) of panitumumab (pmab) with FOLFOX compared with FOLFOX alone in patients (pts) with previously untreated metastatic colorectal cancer (mCRC): pooled safety data. *J ClinOncol*. 2008; 26(20):15.
32. Crane CH, Ellis LM, Abbruzzese JL, et al. Phase I trial evaluating the safety of bevacizumab with concurrent radiotherapy and capecitabine in locally advanced pancreatic cancer. *J ClinOncol*. 2006; 24(7):1145-51.
33. Maindrault-Goebel F, Louvet C, André T, et al. Oxaliplatin added to the simplified bimonthly leucovorin and 5-fluorouracil regimen as second-line therapy for metastatic colorectal cancer (FOLFOX6).GERCOR. *Eur J Cancer*. 1999; 35(9):1338-42
34. Guda K; Upender MB; Belinsky G; Flynn C; Nakanishi M; Marino JN, et al. Carcinogen-induced colon tumors in mice are chromosomally stable and are characterized by low-level microsatellite instability. *Oncogene*. 2004; 23(21): 3813-21.
35. Hann B; Balmain A. Building 'validated' mouse models of human. *Curr Opin Cell Biol*. 2001; 13(6):778-84.
36. Adrienne E, Nauss R. Rodent models for carcinoma of the colon. *Digestive Diseases and Sciences*. 1985; 30 (12): 87S-102S.
37. Koaek-Larsen M; Thorup I; Diederichsen A; Fenger C; Hoitinga MR, Review of colorectal cancer and its metastases in rodent models: Comparative aspects with those in humans. *Comp Med*. 2000; 50 (1): 16-26.
38. Arroyo J, .Bonilla P, Ore R, et al. Estudio morfohistológico y efecto quimioprotector de las hojas de *Bidens pilosa* L. sobre el cáncer de colon inducido en ratas. *An. Fac. Med*. 2008; 69 (2): 77-83.

39. Glauert HP, Bennink MR. Metabolism of 1,2-dimethylhydrazine by cultured rat colon epithelial cells. *Nutrition and Cancer*. 1983; 5 (2): 78-86.
40. Oravec CT, Jones CA, Huberman E. Activation of the colon carcinogen 1,2-dimethylhydrazine in a rat colon cell-mediated mutagenesis assay. *Cancer Research*. 1986; 46 (10): 5068-71.
41. Hose JE. Potential uses of sea urchin embryos for identifying toxic chemicals: description of a bioassay incorporating cytologic, cytogenetic and embryologic endpoints. *Journal of Applied Toxicology*. 1985; 5(4): 245-54.
42. Casually L. Anticancer agents based on natural products models. New York: Academic Press; 1980: p.250-2
43. Namasivayam N, Vaiyapuri M, Venugopal M. Effect of coconut cake on the bacterial enzyme activity in 1,2 - dimethyl hydrazine induced colon cancer. *Clin Chim Acta*. 2004; 342 (1-2): 203-1
44. R. van Der Heijden, D. I. Jacobs, W. Snoeijer, D. Hallard, R. Verpoorte. "The *Catharanthus* alkaloids: Pharmacognosy and biotechnology". *Curr. Med. Chem.*, 11 . (2004). 607-28
45. Brañez M, Olortegui J, Evaluación de la actividad citotóxica y antimicrobiana de glicoalcaloides esteroideos de las hojas de *Solanum albidum* Dunal y *Solanum oblongifolium* Dunal. Tesis para optar al título profesional de Químico Farmacéutico). Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima-Perú 2009
46. Mongelli E, Coussio J y Ciccía G. Estudio de Toxicidad aguda de plantas medicinales argentinas mediante el bioensayo de *Artemia salina* Leach. *Revista Dominguezia* Vol. 12. Nº 1 -1995. Buenos Aires. 1995.
[accesado 03 de enero 2013]
Disponible en: www.dominguezia.org.ar/volumen/articulos/1214.pdf

47. Justil H, Arroyo J, Valencia J. Extracto etanólico de *Baccharis genistelloides* (carqueja) sobre el cáncer de colon inducido con 1,2-dimetilhidrazina en ratas. An Fac med. 2010; 71(2):88-96

IX.-ANEXOS

Tabla 18. Distribución geográfica de la especie y su endemismo

	<i>Distribución / endemismo</i>
<i>Allamanda weberbaeri</i>	PERÚ - Endémico
<i>Aristeguietia ballii</i>	PERÚ- Endémico
<i>Gentianella thyrsoides</i>	PERÚ - Endémico
<i>Iresine weberbaueri</i>	PERÚ - Endémico
<i>Melocactus bellavistensis</i>	PERÚ - Endémico
<i>Pseudobombax cajamarcanus</i>	PERÚ - Endémico
<i>Thevetia peruviana</i>	PERÚ, Ecuador, Bolivia, etc.

Tabla 19. Departamentos donde fueron colectadas las especies

<i>ESPECIES</i>	<i>Departamento de colecta</i>
<i>Allamanda weberbaeri</i>	AMAZONAS
<i>Aristeguietia ballii</i>	LIMA
<i>Gentianella thyrsoides</i>	ANCASH
<i>Iresine weberbaueri</i>	CAJAMARCA
<i>Melocactus bellavistensis</i>	CAJAMARCA
<i>Pseudobombax cajamarcanus</i>	AMAZONAS
<i>Thevetia peruviana</i>	AMAZONAS

Tabla 20. Datos de variables obtenidos de ratas normales que recibieron por vía oral alcaloides de *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso)

Variable	Tratamiento	Valor	Error	Intervalo confianza 95%		Mínimo	Máximo
		medio	estándar	Inferior	Superior		
Glucosa	Normal (SSF)	69,8	2,5	64,1	75,6	59,1	80,0
	Normal + Extracto 10 mg/kg	79,3	2,6	73,2	85,4	65,6	90,0
Colesterol	Normal (SSF)	49,6	8,0	31,1	68,1	24,2	109,2
	Normal + Extracto 10 mg/kg	49,9	2,9	43,1	56,7	39,4	67,4
HDL	Normal (SSF)	16,0	1,7	12,1	19,9	10,8	24,9
	Normal + Extracto 10 mg/kg	12,1	0,7	10,5	13,8	9,3	14,7
LDL	Normal (SSF)	20,8	2,6	14,8	26,9	11,9	33,0
	Normal + Extracto 10 mg/kg	21,7	1,6	17,9	25,5	16,8	29,3
Triglicéridos	Normal (SSF)	77,1	20,6	29,5	124,7	18,6	210,1
	Normal + Extracto 10 mg/kg	90,5	18,4	48,1	132,9	38,0	220,6
Urea	Normal (SSF)	16,7	1,9	12,4	21,0	11,0	29,1
	Normal + Extracto 10 mg/kg	14,5	1,5	11,2	17,9	10,0	24,1
Creatinina	Normal (SSF)	8,6	0,8	6,8	10,4	5,6	11,7
	Normal + Extracto 10 mg/kg	6,6	0,2	6,0	7,1	5,4	7,6
BT	Normal (SSF)	0,7	0,0	0,6	0,8	0,5	0,9
	Normal + Extracto 10 mg/kg	0,8	0,0	0,7	0,9	0,7	1,0
BD	Normal (SSF)	0,2	0,0	0,2	0,3	0,1	0,3
	Normal + Extracto 10 mg/kg	0,2	0,0	0,1	0,2	0,1	0,3
BI	Normal (SSF)	0,5	0,0	0,4	0,6	0,4	0,7
	Normal + Extracto 10 mg/kg	0,7	0,0	0,6	0,7	0,5	0,8
GOT	Total	0,6	0,0	0,5	0,6	0,4	0,8
	Normal (SSF)	59,0	9,7	36,6	81,4	10,0	96,0
GTP	Normal + Extracto 10 mg/kg	52,0	4,4	41,9	62,1	42,0	85,0
	Normal (SSF)	18,7	2,0	14,1	23,3	12,0	26,0
Hematíes	Normal + Extracto 10 mg/kg	11,7	1,2	9,0	14,4	8,0	20,0
	Normal (SSF)	3900000,0	299698,9	3208893,0	4591107,0	2100000,0	5520000,0
Leucocitos	Normal + Extracto 10 mg/kg	3782222,2	75659,7	3607750,8	3956693,7	3330000,0	4100000,0
	Normal (SSF)	7,2	1,1	4,7	9,8	3,8	12,5
Hemoglobina	Normal + Extracto 10 mg/kg	10,0	3,3	2,5	17,6	3,9	35,3
	Normal (SSF)	11,9	0,9	9,8	14,1	6,2	16,9
Hematocrito	Normal + Extracto 10 mg/kg	11,5	0,3	10,9	12,1	10,0	12,8
	Normal (SSF)	35,6	3,1	28,4	42,7	17,0	53,0
Segmentados	Normal + Extracto 10 mg/kg	34,8	0,8	33,0	36,6	30,0	38,0
	Normal (SSF)	30,4	2,2	25,5	35,4	20,0	39,0
Linfocitos	Normal + Extracto 10 mg/kg	32,6	2,9	25,8	39,3	22,0	49,0
	Normal (SSF)	69,4	2,1	64,6	74,3	61,0	79,0
Monocitos	Normal + Extracto 10 mg/kg	67,1	2,9	60,3	73,9	51,0	78,0
	Normal (SSF)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Normal + Extracto 10 mg/kg	0,1	0,1	-0,1	0,4	0,0	1,0

Tabla 21. Análisis de varianza de datos obtenidos en ratas normales que recibieron por vía oral alcaloides de *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso)

Variable	Tratamiento	Suma de cuadrados	df Media de cuadrados	F	Significancia
Glucosa	Between Groups		403,5 1	403,5 6,8	0,019
	Within Groups		947,7 16	59,2	
Colesterol	Between Groups		0,4 1	0,4 0,0	0,974
	Within Groups		5241,7 16	327,6	
HDL	Between Groups		67,8 1	67,8 4,5	0,049
	Within Groups		240,0 16	15,0	
LDL	Between Groups		3,5 1	3,5 0,1	0,779
	Within Groups		686,4 16	42,9	
Triglicéridos	Between Groups		812,4 1	812,4 0,2	0,634
	Within Groups		55020,4 16	3438,8	
Urea	Between Groups		21,1 1	21,1 0,8	0,374
	Within Groups		403,5 16	25,2	
Creatinina	Between Groups		17,9 1	17,9 7,2	0,017
	Within Groups		37,6 15	2,5	
BT	Between Groups		0,1 1	0,1 3,9	0,067
	Within Groups		0,3 16	0,0	
BD	Between Groups		0,0 1	0,0 0,4	0,555
	Within Groups		0,1 16	0,0	
BI	Between Groups		0,1 1	0,1 8,8	0,009
	Within Groups		0,2 16	0,0	
GOT	Between Groups		220,5 1	220,5 0,4	0,520
	Within Groups		8144,0 16	509,0	
GTP	Between Groups		220,5 1	220,5 9,1	0,008
	Within Groups		386,0 16	24,1	
Hematíes	Between Groups	6242222222,2 1		6242222222,2 0,1	0,708
	Within Groups	687915555555,6 16		42994722222,2	
Leucocitos	Between Groups		36,0 1	36,0 0,7	0,425
	Within Groups		859,1 16	53,7	
Hemoglobina	Between Groups		0,8 1	0,8 0,2	0,664
	Within Groups		69,2 16	4,3	
Hematocrito	Between Groups		2,7 1	2,7 0,1	0,812
	Within Groups		741,8 16	46,4	
Segmentados	Between Groups		20,1 1	20,1 0,3	0,570
	Within Groups		954,4 16	59,7	
Linfocitos	Between Groups		24,5 1	24,5 0,4	0,527
	Within Groups		935,1 16	58,4	
Monolitos	Between Groups		0,1 1	0,1 1,0	0,332
	Within Groups		0,9 16	0,1	

Tabla 22. Análisis de varianza de datos obtenidos en ratas con inducción de cáncer de colon por dimetilhidrazina y que recibieron vía oral alcaloides de *Melocactus bellavistensis* (cactus globoso)

Variable	Trtamiento	Suma de cuadrados	df Media de cuadrados	F	Significancia
Glucosa	Between Groups	445,6 4	111,4 1,9	0,136	
	Within Groups	2517,2 42	59,9		
Colesterol	Between Groups	1162,2 4	290,5 2,0	0,117	
	Within Groups	6202,8 42	147,7		
HDL	Between Groups	118,7 4	29,7 3,5	0,015	
	Within Groups	355,3 42	8,5		
LDL	Between Groups	156,4 4	39,1 1,6	0,199	
	Within Groups	1042,4 42	24,8		
Triglicéridos	Between Groups	5828,8 4	1457,2 1,2	0,335	
	Within Groups	52075,9 42	1239,9		
Urea	Between Groups	290,4 4	72,6 2,4	0,062	
	Within Groups	1254,6 42	29,9		
Creatinina	Between Groups	35,5 4	8,9 2,5	0,055	
	Within Groups	144,3 41	3,5		
BT	Between Groups	0,0 4	0,0 0,2	0,948	
	Within Groups	1,3 42	0,0		
BD	Between Groups	0,0 4	0,0 0,8	0,537	
	Within Groups	0,4 42	0,0		
BI	Between Groups	0,0 4	0,0 0,5	0,757	
	Within Groups	0,8 42	0,0		
GOT	Between Groups	1999,6 4	499,9 0,9	0,457	
	Within Groups	22618,1 42	538,5		
GTP	Between Groups	58,9 4	14,7 0,4	0,806	
	Within Groups	1538,4 42	36,6		
Hematíes	Between Groups	4138598244680,9 4	1034649561170,2 3,1	0,025	
	Within Groups	13936197500000,0 42	331814226190,5		
Leucocitos	Between Groups	92,3 4	23,1 3,9	0,009	
	Within Groups	251,7 42	6,0		
Hemoglobina	Between Groups	41,3 4	10,3 3,2	0,023	
	Within Groups	136,4 42	3,2		
Hematocrito	Between Groups	367,6 4	91,9 3,0	0,031	
	Within Groups	1308,0 42	31,1		
Segmentados	Between Groups	467,7 4	116,9 2,8	0,038	
	Within Groups	1757,1 42	41,8		
Linfocitos	Between Groups	250,8 4	62,7 1,0	0,395	
	Within Groups	2517,1 42	59,9		